n° 1199 -

THÈSE

PRÉSENTÉE

A L'UNIVERSITÉ DE PARIS-SUD
CENTRE D'ORSAY

POUR OBTENIR

LE GRADE DE DOCTEUR ÈS-SCIENCES PHYSIQUES

PAR

Jean HILDESHEIM

Sujet de la Thèse:

SYNTHESES de DERIVES de SUCRES
et de NUCLEOSIDES
d'INTERET BIOLOGIQUE

Soutenue le 5.12.73 devant la Commission d'Examen

MM E. LEDERER Président

F. CHAPEVILLE
S.D. GERO
P. POTIER
J.P. WALLER
Examinateurs

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41549224_0011

THÈSE

PRÉSENTÉE

A L'UNIVERSITÉ DE PARIS-SUD
CENTRE D'ORSAY

POUR OBTENIR

LE GRADE DE DOCTEUR ÈS-SCIENCES PHYSIQUES

PAR

Jean HILDESHEIM

Sujet de la Thèse:

SYNTHESES de DERIVES de SUCRES
et de NUCLEOSIDES
d'INTERET BIOLOGIQUE

Soutenue le devant la Commission d'Examen

MM E. LEDERER Président

F. CHAPEVILLE

S.D. GERO

P. POTIER

J.P. WALLER

Examinateurs

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

SOMMAIRE

AVANT-PROPOS p. i

INTRODUCTION GENERALE p. 1

PREMIERE PARTIE:SYNTHESES DE DERIVES AZOTES DE PENTO-FURANOSIDES ET D'HEXOPYRANOSIDES D'INTERET BIOLOGIQUE.

PUBLICATION 1-A Introduction d'une insaturation dans un système tétrahydrofurannique p. 13

PUBLICATION 1-B Déplacements en série méthyl furanoside Synthèses de dérivés du 2,3,5-triamino-2,3,5-tridésoxy-D-arabinose et D-xylose. p. 14

PUBLICATION 1-C Nouvelle voie d'accès aux dérivés méthyl β-D-lyxofuranosiques à partir du méthyl 2,3,5-tri-O-p-tolylsulfonyl-β-D-ribofuranoside.de méthyl p. 16

PUBLICATION 1-D An elimination reaction with sodium benzoate-dimethylformamide,leading to a furanoïd vinyl-tosylate p. 18

PUBLICATION 1-E Réactions d'élimination et de substitution en série méthyl β-D-lyxofuranosique p. 18

PUBLICATION 1-F Synthesis of some N-substituted methyl 2,3-dideoxy-2,3-epimino-β-D-lyxofuranosides p. 20

PUBLICATION 1-G The synthesis of methyl-β-D-lyxofuranoside derivatives bearing a fused oxazoline ring p. 21

PUBLICATION 1-H Reactions d'assistance de type 1,3 en série ribofuranosique. p. 22

CHAPITRE II

PUBLICATION 1-I Alcaloïdes stéroïdiques-C^1:Les holantosines A et B,nouveaux amino-glycostéroïdes isolés de feuilles de l'HOLARRHENA ANTI-DYSENTERICA(ROXB)Wall. p. 24

CHAPITRE III

PUBLICATION 1-J Synthesis of 2,4-diacetamido-2,4,6-trideoxy-D-glucose from 2-acetamido-2-deoxy-D-glucose and its identification with the diacetamido sugar of BACILLUS LICHENIFORMIS p. 26

SECONDE PARTIE:SYNTHESE DE DERIVES DE SUCRES ET DE NUCLEOSIDES:UTILISATION ET EVALUATION BIOCHIMIQUE

CHAPITRE I

PUBLICATION 2-A The use of 1-amino-L-fucose bound to sepharose in the isolation of L-fucose binding proteins p. 28

CHAPITRE II

PUBLICATION 2-B Labelling of the active site of β-galactosidase by N-bromoacetyl β-D-galactopyranosylamine. p. 29

CHAPITRE III

INTRODUCTION p. 30

PUBLICATION 2-C Synthèses d'inhibiteurs de méthyl transferases,analogues de la S-adénosyl homocystéine p. 32

PUBLICATION 2-D Nouvelles synthèses d'analogues de la S-adénosyl homocystéine,inhibiteurs potentiels des méthyl transferases. p. 32

PUBLICATION 2-E Inhibiteurs synthétiques de méthyl-transférases. p. 32

PUBLICATION 2-F Etude de l'inhibition d'une t-ARN N^2-guanine méthyl transferase de foie de lapin par des analogues de la S-adénosyl homocystéine p. 36

PUBLICATION 2-G Studies on synthetic inhibitors of t-RNA methyl transferases:analogs of S-adenosyl homocysteine p. 36

PUBLICATION 2-H Selective inhibition of t-RNA methyl-transferases by S-adenosyl homocysteine and two of its analogs p. 38

PUBLICATION 2-I A base-pairing hypothesis for t-RNA methylation p. 40

DISCUSSION SUR LES RESULTATS D'INHIBITION OBTENUS DANS LE CHAPITRE III. p. 42

CONCLUSION DU CHAPITRE III p. 53

CONCLUSION GENERALE p. 54

BIBLIOGRAPHIE ADDITIONNELLE p. 55

PUBLICATIONS DE L'AUTEUR RELATIFS AUX SUJETS TRAITES DANS LA THESE p. I

AVANT-PROPOS

Cette thèse est composée de six chapitres.

Les deux premiers chapitres ont fait l'objet d'une thèse d'Université* effectuée à l'Institut de Chimie des Substances Naturelles soutenue en Janvier 1970.

Le troisième chapitre de la première partie ainsi que les deux premiers de la seconde partie sont le fruit d'un stage post-doctoral à l'Institut Weizmann où je fus amené, en plus d'un travail purement synthétique, à m'intéresser aux sujets traités dans le Département de Biophysique. De retour à Gif, il me fut proposé un sujet correspondant à mes nouvelles aspirations : l'étude des méthyl transférases. C'est évidemment avec l'optique du chimiste que j'ai essayé d'aborder ce problème.

Les six chapitres sont présentés dans un ordre chronologique. Leur point commun est la synthèse organique qui est la motivation principale dans la première partie et l'outil primordial dans la seconde.

Le mémoire présenté est souvent le fruit d'une collaboration entre mes collègues de laboratoire ou étrangers.

Je tiens à remercier mes collègues et amis, Dr J. CLEOPHAX, Dr A.M. SEPULCHRE, Dr D. MERCIER ainsi que le Dr S.D. GERO qui dirigea mon travail durant trois années et qui accepta de faire partie de mon jury.

---

*Synthèses de dérivés azotés de pentofuranosides et d'hexopyranosides d'intérêt biologique. (Mention Sciences) Faculté des Sciences d'Orsay.

Je suis également reconnaissant à mes collègues de l'Institut Weizmann à Rehovot qui m'ont patiemment fait comprendre l'intérêt présenté par des composés synthétiques pour l'étude de phénomènes biochimiques. J'aimerais en particulier remercier le Professeur N. SHARON, les Dr S. BLUMBERG, J. YARIV, et V. TEICHBERG.

C'est avec plaisir que je remercie mes collaborateurs et collègues actuels qui, en plus de leur compétence, entretiennent un climat d'excellente entente : Mme G. FARRUGIA, M. P. BLANCHARD, Dr R. MICHELOT et bien sûr Mme R. HILDESHEIM.

Une aide efficace et desintéressée me fut apportée pour la mise en page de cette thèse, sa rédaction, ses multiples corrections ; de ce fait, je suis reconnaissant à Mesdames Chaû NGUYEN DAC et Monique BOULEGUE.

Je remercie en outre le Professeur F.CHAPEVILLE, le Docteur S.D.GERO, le Docteur P.POTIER, le Docteur J.P.WALLER et le Professeur E.LEDERER, qui ont accepté de faire partie de mon Jury.

Finalement, j'ai eu souvent l'occasion d'exprimer ma reconnaissance au Professeur Edgar LEDERER, Directeur de l'Institut de Chimie des Substances Naturelles et Président du Jury. Je suis en particulier sensible à l'amitié qu'il m'a sans cesse témoignée, à la confiance qu'il m'a constamment accordée et ce, depuis mes débuts particulièrement modestes à l'Institut de Biologie Physico Chimique, Paris.

INTRODUCTION

Cette thèse consacrée à la chimie et à la biochimie de sucres, de nucléosides et de leurs dérivés est divisée en deux parties chacune comportant trois chapitres.

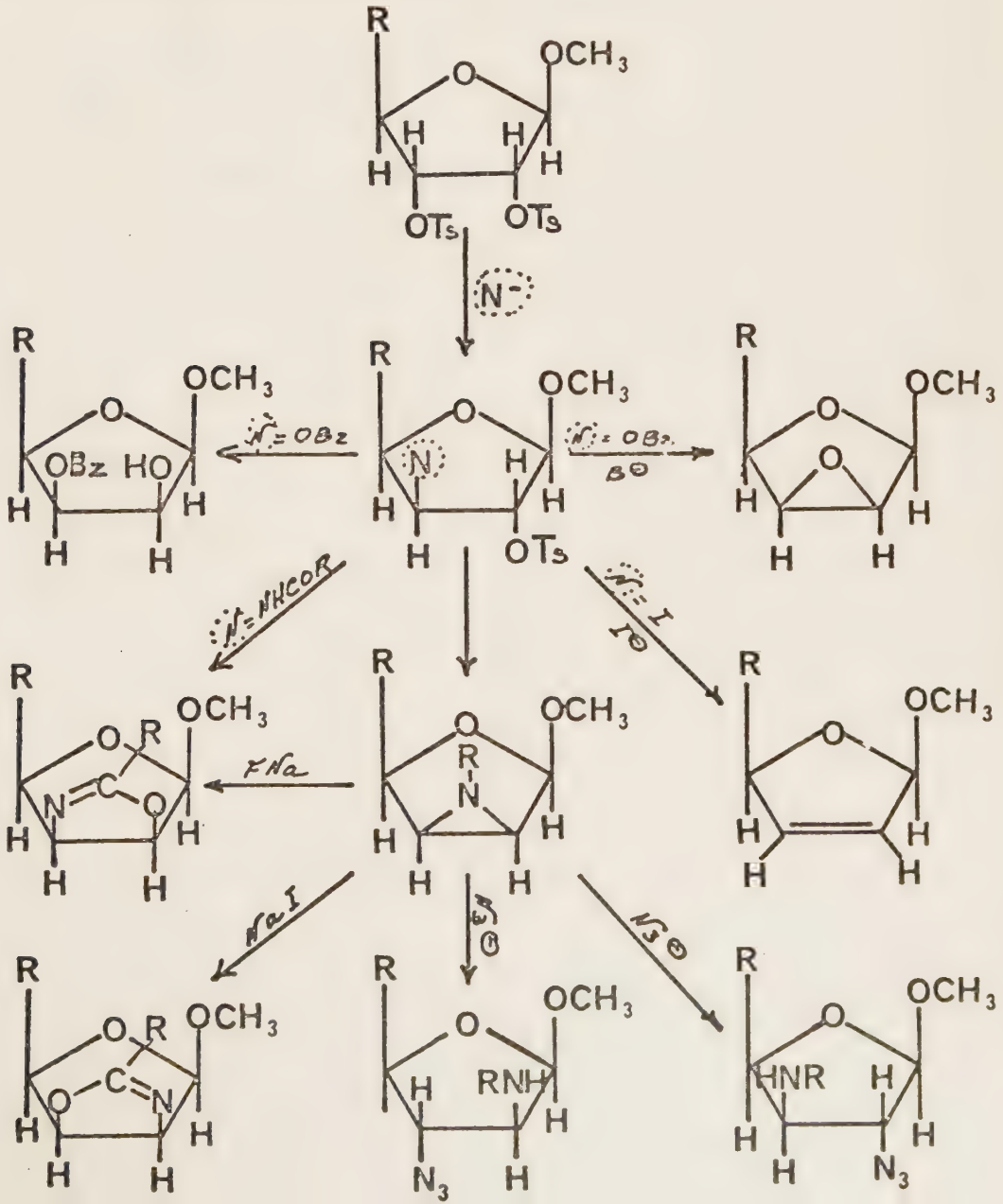
La première partie porte sur l'élaboration de systèmes "clef" synthétiques pouvant mener potentiellement à la synthèse d'antimétabolites ayant une structure osidique ou nucléosidique. Elle a pour but l'étude de la réactivité du cycle furanosique et pyranosique vis à vis d'agents nucléophiles, permettant des modifications sélectives au niveau des différentes fonctions. La recherche et l'étude de réactions sélectives voire spécifiques dans le domaine des sucres est particulièrement justifiée si l'on se réfère au fait que ces molécules ont une densité fonctionnelle très élevée de groupements hydroxyles.

Les différentes modifications apportées aux sucres de forme furanosique ou pyranosique tendent aujourd'hui à l'élaboration de "sucres rares" isolés de substances antibiotiques. La plupart de ces composés ont été étudiés au cours de ces deux dernières décades et une proportion non négligeable d'entre eux contient une partie osidique insaturée et surtout aminée dont la nature peut être extrêmement variable. Une classe de tels antibiotiques voit sa structure apparentée aux nucléosides. Le plus connu d'entre eux est probablement la puromycine étudiée en 1952 par Williams et coll. (1).

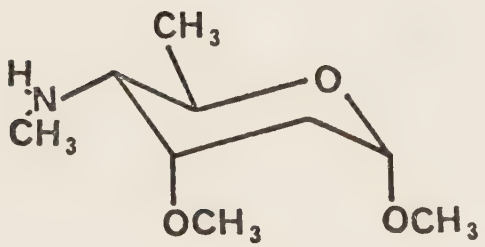
La puromycine est active sur un large éventail de microorganismes et, de plus, elle possède une activité antitumorale. Il est intéressant de noter que l'analogue 3' amino-adénosine possède une activité de même ordre (2).

La synthèse de dérivés aminés, surtout de forme pyranosique, a été entreprise dans de nombreux laboratoires dans le but, soit de confirmer la structure de glycosides isolés de sources naturelles, soit d'en élaborer des analogues. Signalons qu'à l'origine de ce travail, effectué dans le laboratoire de M. S.D. GERO, peu de modifications fonctionnelles visant à introduire des groupements azotés avaient été entreprises sur le cycle furanosique.

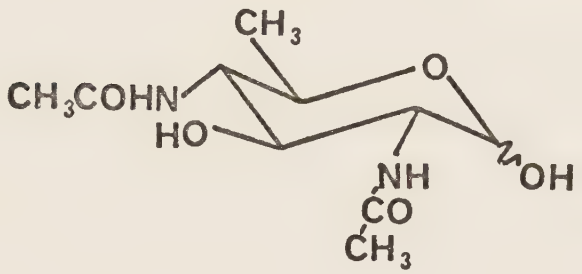
Ainsi le premier chapitre se situe dans le cadre d'un projet visant à l'élaboration de systèmes désoxyfuranosiques, mono et polyaminés, susceptibles par la suite d'être condensés avec des bases puriques ou pyrimidiques. L'approche générale utilisée est basée sur des réactions sélectives de déplacements nucléophiles de sulfonates convenablement situés sur le cycle furanosique ou pyranosique : le schéma ci-dessous résume les modifications apportées.



Le second chapitre décrit la synthèse totale en vingt étapes de la N-méthyl holosamine, constituant glycosidique d'alcaloïdes glycostéroïdés comme l'holacurtine et la mitiphylline, isolés à partir de feuilles d'Holarrhena antidysenterica dans le service du Professeur M.M. JANOT (3, 4). La structure de ce glycoside est celle d'un 4-amino 2, 4, 6 tridésoxy hexopyranoside.



Le troisième chapitre décrit la synthèse d'un composé naturel, la Bacillosamine,isolé d'une souche de Bacillus subtilis par Sharon et Jeanloz en 1959 (5). Sa structure est celle d'un 2, 4 di-acétamido 2, 4, 6 tridésoxy-hexopyranoside de configuration "gluco". Nous avons synthétisé la bacillosamine à partir de la N-acétyl glucosamine.

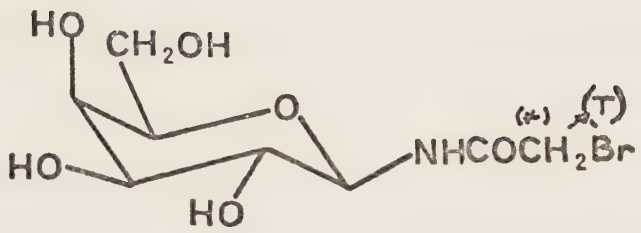


La seconde partie de cette thèse correspond à une évolution plus récente de mon intérêt pour les sucres et les nucléosides. Elle est consacrée à l'élaboration de substances variées, utilisables pour des études de processus biochimiques mettant en jeu des interactions de type : enzyme - inhibiteur.

Je dois à mon stage au Département de Biophysique de l'Institut Weizmann (dont le Directeur était à l'époque le Professeur E. KATCHALSKY) cette nouvelle orientation.

Dans le premier chapitre la β-L-fucosylamine insolubilisée sur agarose a permis la purification de protéines liantes de L-fucosides. La chromatographie d'affinité (6), développée par Cuatrecasas (7) permet la purification rapide à partir d'un mélange brut d'une protéine ou d'un enzyme dont le substrat est lié chimiquement ou non à une matrice. Cette technique se base donc sur l'interaction enzyme-substrat ou enzyme-inhibiteur. Elle nécessite au préalable une étude chimique et biochimique du substrat de façon à déterminer laquelle des fonctions de ce substrat (ou inhibiteur) peut être liée au support sans nuire à la formation d'un complexe. Le principe de la chromatographie par affinité est donc simple : toute molécule ne reconnaissant pas le substrat lié (ou l'inhibiteur lié) ne sera pas retenue sur la colonne, tandis que la substance complémentaire le sera. Cette dernière pourra être éluée par tout moyen détruisant le complexe formé.

Au second chapitre, nous mentionnons la synthèse d'un dérivé de la β-galactosylamine, marqué au ^{14}C : la N-bromacétyl galactosylamine et nous décrivons son action sur la β-galactosidase.



Ce produit a été utilisé pour "marquer" spécifiquement le site enzymatique de la β-galactosidase. Cette enzyme, isolée d'Escherichia coli, composée de 4 sous unités, a un poids moléculaire voisin de 500.000. Sa fonction "in vivo", comme son nom l'indique, est de cliver la liaison β-glycosidique entre le galactose et un aglycone (par exemple : hydrolyse du lactose). La spécificité de cette enzyme pour son substrat est remarquable pour toutes les fonctions autres que celles occupant la liaison anomérique. De ce fait seul l'oxygène anomérique peut être remplacé par un autre atome, l'azote ou le soufre, ce dernier portant une fonction potentiellement alkylante.

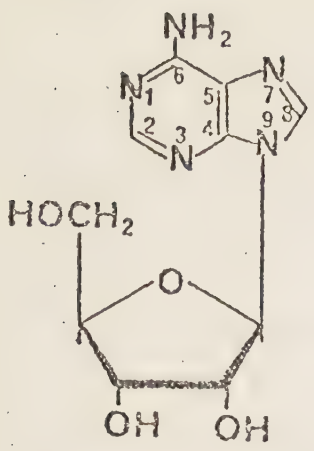
La technique de l'alkylation spécifique irréversible d'un site enzymatique se base sur les mêmes principes que ceux de la chromatographie par affinité : un substrat portant un groupement alkylant (époxyde, épimine, diazocétone, bromacétyle, pour ne citer que les plus couramment employés) se complexera, dans une première étape,

spécifiquement à l'enzyme au niveau de son site.

Si une fonction nucléophile de la chaîne polypeptidique du site de l'enzyme se trouve dans l'environnement immédiat du groupement alkylant, un déplacement pourra avoir lieu avec pour conséquence, la formation d'une liaison covalente entre l'enzyme et le substrat modifié. L'inhibition sera irréversible. Une dégradation du complexe par des enzymes protéolytiques permettra alors l'identification et la localisation de l'amino-acide responsable de l'alkylation. Cette méthode est un moyen déterminant de l'étude du mécanisme enzymatique.

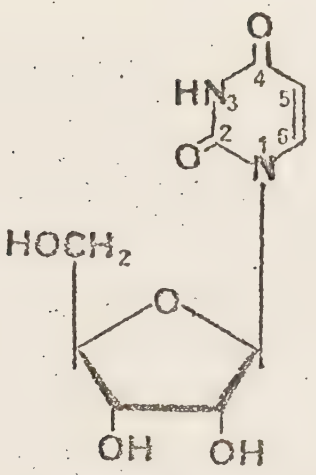
Le troisième chapitre de cette seconde partie est consacré à l'étude de méthyl transférases d'acides ribonucléiques de transfert (t-ARN). Ce sujet a été traité à Gif dans le Service du Professeur E. LEDERER et sous sa direction.

Rappelons très sommairement que les t-ARN sont des polynucléotides de faible poids moléculaire (25.000 - 30.000) dont la fonction est de transférer spécifiquement un aminoacide aux ribosomes, ces derniers représentant l'unité de synthèse proprement dite des chaînes polypeptidiques composant les protéines. Les t-ARN sont généralement caractérisés par la présence de "bases mineures" dont la structure représente une déviation plus ou moins prononcée de celle des quatre bases normalement rencontrées dans les acides ribonucléiques. A ce jour plus d'une quarantaine de ces bases ont été découvertes dans des hydrolysats de t-ARN et leurs structures déterminées à l'aide des moyens physiques usuels et par synthèse ([8]). Citons pour mémoire quelques-unes de ces bases : la dihydro uridine, la pseudo uridine, la thio uridine, l'inosine, la thioinosine, la triacanthine ou diméthylallyladénine et d'une façon générale les substances dénommées cytokinines etc ... Le type de déviation le plus couramment observé est la méthylation en positions variées du cycle purique, pyrimidique ou sur l'oxygène en 2' du ribose. Nous donnons ci-dessous une liste de ces nucléosides méthylés.



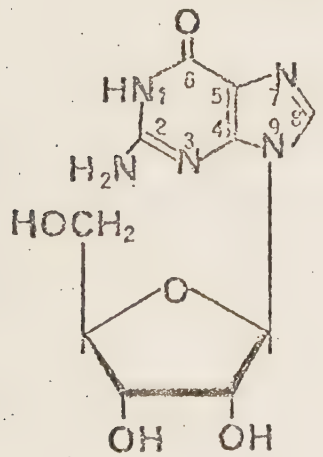
ADENOSINE

1-méthyl adénosine
2-méthyl adénosine
N^6-méthyl adénosine
N^6,N^6-diméthyl adénosine
2'-O-méthyl adénosine



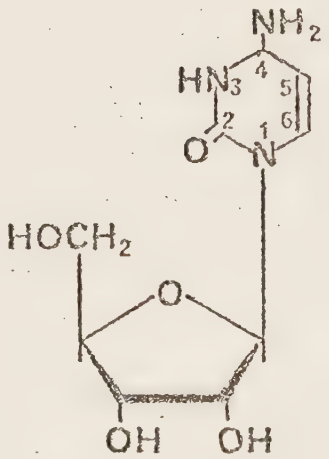
URIDINE

3-méthyl uridine
5-méthyl uridine
2'-O-méthyl uridine



GUANOSINE

1-méthyl guanosine
N^2-méthyl guanosine
N^2,N^2-diméthyl guanosine
7-méthyl guanosine
2'-O-méthyl guanosine



CYTIDINE

N^3-méthyl cytidine
5-méthyl cytidine
N^4-méthyl cytidine
2'-O-méthyl cytidine

A ces nucléosides,il faut ajouter la 1-méthyl inosine,la 2'-O-méthyl inosine et la 2'-O-méthyl pseudo uridine.

La fonction de ces bases méthylées est mal connue et fait l'objet de spéculations intensives : par exemple, il a été suggéré par Borek (9) que les unités méthylées introduisaient un degré supplémentaire de différenciation entre les divers t-ARN. De plus on peut imaginer qu'un méthyle, par sa présence stérique, peut empêcher l'appariement entre deux bases normalement complémentaires. En fait, mises à part quelques exceptions, les nucléotides méthylés ne se rencontrent que dans les régions non appariées du t-ARN. Cependant, on sait que la méthylation confère au t-ARN un effet hypochromique qui implique une structure secondaire ou tertiaire plus liée (10).

La nécessité d'une méthylation optimale in vivo d'un t-ARN donné a pu être démontrée par exemple par le fait qu'une hypométhylation menait à une "aberration de lecture" au niveau des ribosomes* (11).

Borek et ses collaborateurs ont montré (12, 13) que la méthylation avait lieu in vivo au niveau macromoléculaire sur un t-ARN préformé. Les enzymes responsables de cette alkylation sont appelées méthylases ou méthyl-transférases (E C. 2.1.1.) et utilisent la S-adénosyl méthionine comme donneur de méthyle.

Le schéma global de cette réaction se formule de la façon suivante :

$$\text{S-adénosyl L méthionine (SAM)} + \text{t-ARN} \xrightarrow{\text{méthyl transférase}} \text{t-ARN méthylé(s)} + \text{S-adénosyl L homocystéine (SAH)}$$

La S-adénosyl L méthionine (SAM) ou "méthionine active" est synthétisée à partir de l'ATP et de la méthionine par une transférase. La S-adénosyl L homocystéine (SAH) est l'un des produits de la réaction : c'est un inhibiteur compétitif puissant et universel de la réaction de transméthylation. Plusieurs excellentes revues ont été publiées résumant l'état des connaissances sur les méthyl transférases (8, 11-14) ; ce dernier

---

* Il s'agit d'une erreur de lecture du codon de l'ARN messager attaché au système ribosomal.

en date (11) est plus spécialement consacré aux méthyl transférases de t-ARN. Etant donné l'extraordinaire quantité de travaux qu'ont suscitée les méthyl transférases, il serait vain de tenter de donner dans cette thèse une image approfondie des résultats acquis. A l'époque où nous avons commencé à nous intéresser à ce sujet, les points qui ont retenu notre attention étaient les suivants :

A - Purification de méthylases de t-ARN

B - Mécanisme d'action de ces méthylases.

En fait ces deux points sont étroitement liés :

A - A notre connaissance, aucune purification de méthyl transférase de t-ARN n'a été effectuée à ce jour. Ceci est dû aux difficultés d'isolement des méthyl transférases en général, à leur instabilité en particulier. La chromatographie d'affinité permet en principe, par sa rapidité d'utilisation, de résoudre le problème de purification rapide d'enzymes. Afin d'utiliser avec profit cette méthode, l'étude préalable de l'action d'un inhibiteur est nécessaire afin de définir le site d'attachement de ce dernier à un polymère. Il est évident que, seule, une fonction non vitale pour l'intéraction enzyme - inhibiteur pourra être utilisée comme site d'attachement au support polymérique.

B - Le mécanisme d'action de ces enzymes n'est pas connu. Bien que diverses hypothèses basées sur l'expérience chimique aient été avancées, les facteurs gouvernant le processus de reconnaissance enzyme-substrat et le mécanisme de transfert de méthyle proprement dit demeurent obscures.

L'évaluation biochimique d'inhibiteurs synthétiques peut ainsi être un préalable à l'étude des points A et B, puisqu'elle renseigne sur l'importance relative des fonctions de l'inhibiteur.

Des synthèses d'analogues structuraux de la S-adénosyl homocystéine ont été entreprises. Les variations de structure ont porté principalement sur la nature de la base purique et sur celle de la chaîne homocystéine. En particulier, le noyau adénine a été remplacé par la guanine et l'uridine et la chaîne homocystéine a été remplacée par divers analogues de polarité et de tailles différentes.

Le pouvoir inhibiteur des produits synthétisés a été déterminée par des essais sur des méthyl transférases isolées de foie de lapin, le substrat accepteur étant le t-ARN de Escherichia coli B. Le choix du système hétérologue utilisé (méthylase d'origine animale du substrat de souche bactérienne) est justifié si l'on se réfère aux travaux d'Hurwitz et al. (15) : une méthylation homologue (méthylase et substrat isolés des mêmes cellules) ne peut avoir lieu dans des conditions normales (8), le t-ARN ayant déjà été méthylé in vivo de façon optimale

Ainsi que nous le verrons dans ce dernier chapitre, nous avons été amenés, étant donné les résultats acquis, à suggérer une hypothèse générale concernant la transméthylation des t-ARN.

Cette thèse est constituée d'un ensemble de dix-huit publications.

P R E M I E R E P A R T I E

SYNTHESES DE DERIVES AZOTES DE PENTOFURANOSIDES ET D'HEXOPYRANOSIDES D'INTERET BIOLOGIQUE : DEPLACEMENTS NUCLEOPHILES DE TYPE S_N2 .

Dix publications ont été choisies pour illustrer les divers types de modifications fonctionnelles apportées aux cycles furanoïde et pyranoïde. D'une manière générale, les réactions de type S_N2, ainsi que celles faisant appel à une assistance anchimérique de groupements vicinaux, ont été utilisé avec profit pour introduire sélectivement une fonction azotée dans le cycle.

Nous verrons au cours des trois chapitres qui composent cette première partie que la sélectivité,voire la spécificité observée lors des modifications effectuées, est dépendante pour une large part de facteurs stériques mais aussi et surtout de facteurs électroniques qui déterminent le cours de la réaction.

PUBLICATION 1-A

INTRODUCTION D'UNE INSATURATION DANS UN SYSTEME TETRAHYDROFURANNIQUE. par

J.CLEOPHAX, J.HILDESHEIM, et S.D.GERO, (1967)

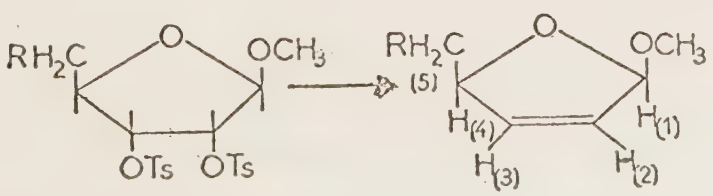
Bull.Soc.Chim.France , 4111-4115.

INTRODUCTION :

Alors qu'une insaturation en position terminale d'un système acyclique est facilement introduite par action de l'iodure de sosium acétonique sur un dérivé disulfonyloxy-1,2, la formation d'une oléfine endocyclique par cette voie n'a pu être effectuée que par l'utilisation du réactif de Tipson et Cohen (iodure de sodium/zinc/N,N-diméthylformamide). Nous décrivons l'introduction spécifique d'une insaturation en 2,3 dans un système furanoïde par l'utilisation de ce réactif. Le rendement de la réaction est élevé.

CONCLUSION :

Le réactif de Tipson et Cohen a permis la synthèse du O-benzoyl-5 didésoxy-2,3 ène-2 β-D-ribofuranoside de méthyle et du dérivé saturé correspondant. Ce dernier est un précurseur synthétique immédiat de didésoxy-2',3' nucléosides.



[I] R=OTs [III] R=OBz

[II] R=OBz

PUBLICATION 1 - B

DEPLACEMENTS EN SERIE METHYL FURANOSIDE. SYTHESE DE DERIVES DU 2,3,5-TRIAMINO-2,3,5- TRIDESOXY-D-ARABINOSE ET -D-XYLOSE. - par J.HILDESHEIM, J.CLEOPHAX,A.-M.SEPULCHRE et S.D.GERO (1969) Carbohyd.Res., 9, 315-322.

INTRODUCTION :

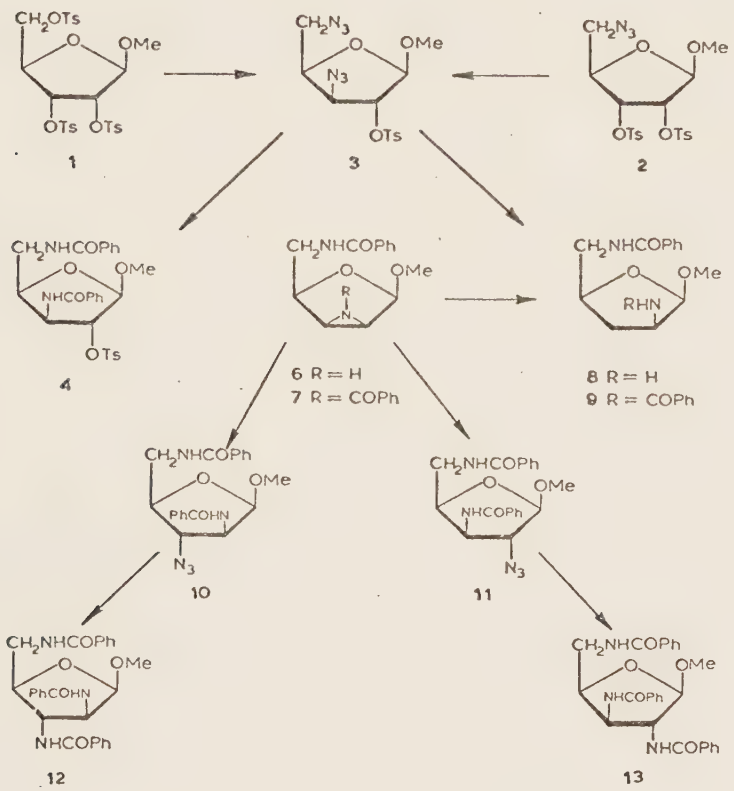
La découverte de sucres aminés et polyaminés possédant des propriétés antibiotiques et antitumorales a stimulé la synthèse de monosaccharides ayant des fonctions azotées. Ces efforts avaient principalement portés sur l'élaboration de dérivés polyaminés, surtout en série hexopyranosique. Dans ce travail, nous décrivons l'introduction successive de trois fonctions azotées dans un pentofuranoside, le produit de départ étant le tri-O-p-toluènesulfonyl-2,3,5 β-D-ribofuranoside de méthyle.

La réalisation de cette polyfonctionalité a pu être résolue par des réactions de type S_N2 et de type anchimérique.

CONCLUSION :

L'introduction successive de fonctions azotées dans le cycle pentofuranosique,permet, par la formation intermédiaire d'une épimine suivie d'une azidolyse,d'obtenir les systèmes peraminés de configuration xylo et arabino. Le dérivé arabino est le produit majeur de l'azidolyse. Seuls les sulfonates de C-3 et C-5 du système méthyl-ribofuranoside peuvent être déplacés par l'ion azide. Le manque de réactivité du sulfonate de C-2 vis à vis de l'ion azide est dû probablement à l'oxygène anomérique en B et à l'oxygène de l'hétérocycle. Les interactions de type "dipolaire" exercés

par ces deux atomes peuvent s'opposer à la formation d'un état de transition sur C-2 lors du déplacement nucléophile. D'une façon générale, rappelons qu'un déplacement sur le carbone-2 d'un pentofuranoside ou d'un hexopyranoside n'est pas observé.



PUBLICATION 1-C

NOUVELLE VOIE D'ACCES AUX DERIVES METHYL β-D-LYXOFURANOSIQUES A PARTIR DU METHYL 2,3,5-TRI-O-p-TOLYLSULFONYL-β-D-RIBOFURANOSIDE.- par

J.HILDESHEIM, J.CLEOPHAX et S.D.GERO (1970)

Carbohyd.Res. 14, 305-314

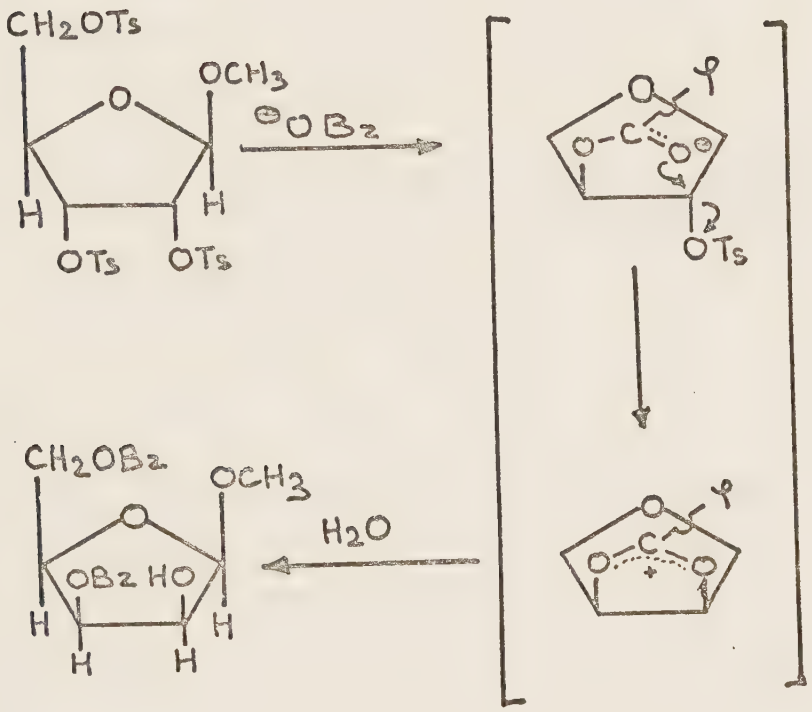
INTRODUCTION :

Les méthyl β-pentofuranosides sont généralement préparés par glucosidation des pentoses correspondants, avec le méthanol chlorhydrique. Cette voie n'est cependant pas applicable à la préparation du β-D- lyxofuranoside de méthyle. Ce fait est explicable si l'on considère les interactions qu'exercent entre eux les hydroxyles de C-1,C-2,C-3 et C-5 tous situés d'un même côté du plan du cyle,lorsque la configuration du carbone anomérique est β. Nous avons tenté de préparer le β -D-lyxofuranoside de méthyle suivant une voie faisant appel à la combinaison d'un déplacement nucléophile S_N2 avec un déplacement intramoléculaire. Le β -D-lyxofuranoside de méthyle est ainsi obtenu avec un rendement de l'ordre de 30 p. cent à partir du tritosyle ribofuranoside de méthyle (contre 3-5 p.cent par la voie classique de méthanolyse du lyxose).

CONCLUSION :

L'obtention des dérivés du β-D-lyxofuranoside de méthyle n'est pas dûe au déplacement direct des trois sulfonates du tritosyle ribofuranoside de méthyle. Nous avons montré que cette double inversion de configuration sur C-2 et C-3 était due au déplacement direct préalable des sulfonates de C-3 et C-5 par l'ion benzoate. Le groupement benzoyle introduit sur C-3 participe alors au déplacement intramoléculaire du

sulfonate de C-2. Il est à noter q'un seul isomère "lyxo" est obtenu. De ce fait l'ouverture par l'eau de l'ion ortho-ester intermédiaire est spécifique:



PUBLICATIONS 1-D et 1-E

AN ELIMINATION REACTION WITH SODIUM BENZOATE-DIMETHYLFORMAMIDE, LEADING TO A FURANOID VINYL-TOSYLATE.- par

J.HILDESHEIM, A.GAUDEMER et S.D.GERO (1970)
Chemistry & Industry, 94-95.

et

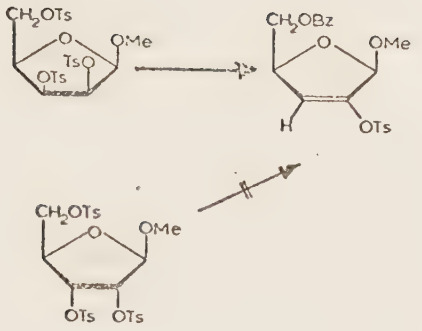
REACTIONS D'ELIMINATION ET DE SUBSTITUTION EN SERIE METHYL-β-D-LYXOFURANOSIQUE.- par J.HILDESHEIM, A.GAUDEMER et S.D.GERO (1970)
Carbohyd.Res., 14, 315-321.

INTRODUCTION :

Les déplacements bimoléculaires sur des sulfonates d'hexopyranosides et de pentofuranosides sont devenus courants depuis une dizaine d'années. Certaines difficultés rencontrées dans le déroulement normal de telles réactions peuvent être attribuées à des effets d'origine stérique ou polaire qui s'opposeraient à la formation d'un état de transition préalable lors du processus de substitution. Dans les deux articles présentés, nous verrons que la"compression stérique" présente dans le tritosyle-β-D-lyxofuranoside de méthyle (où tous les substituants sont orientés d'un même côté du plan du cycle), peut jouer un rôle important dans le déroulement d'un processus de solvolyse ou de substitution.

CONCLUSION :

La réaction du tri-O-p-toluenesulfonyl-β-D-lyxofuranoside de méthyle avec le benzoate de sodium donne exclusivement un énol-2-tosylate. La trans élimination du sulfonate de C-3 est donc une voie préférentielle à celle d'un déplacement direct du sulfonate de C-3.



Ce comportement peut s'expliquer par la géométrie de la molécule "stérique compressée" qui ne permet que difficilement la formation d'un état de transition lors d'un déplacement nucléophile. Par l'utilisation de l'ion azide,(plus puissant que l'ion benzoate et moins encombrant) un déplacement sur C-3 peut néanmoins avoir lieu. En outre, l'on observe une faible différence de réactivité entre les sulfonates primaire et secondaire sur C-5 et C-3, vis à vis de nucléophiles comme l'ion azide et l'ion benzoate une caractéristique qui est peut-être dûe à la géométrie particulière du tritosyle lyxofuranoside de méthyle.

PUBLICATION 1-F

SYNTHESIS OF SOME N-SUBSTITUTED METHYL 2,3-DIDEOXY-2,3-EPIMINO-β-D-LYXOFURANOSIDES.- par

J.CLEOPHAX, S.D.GERO, J.HILDESHEIM , A.-M.SEPULCHRE

R.D.GUTHRIE et C.W.SMITH (1970)

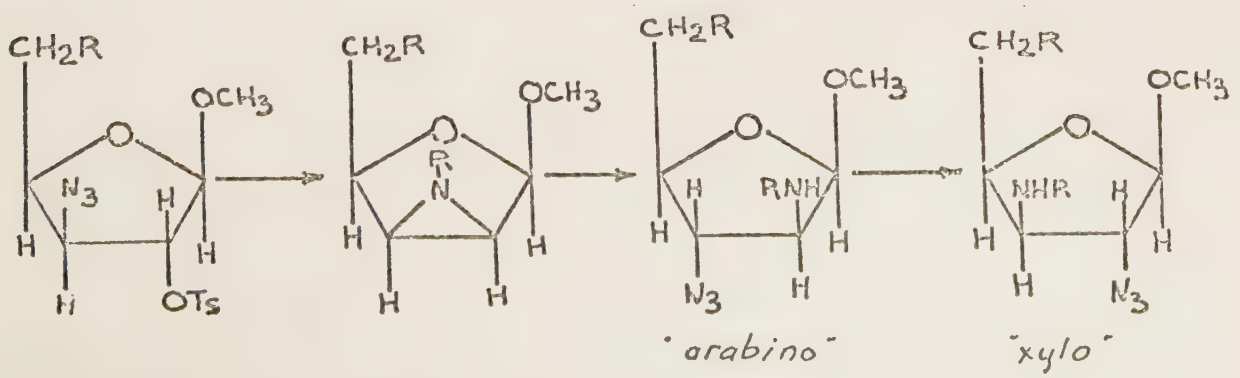
J.Chem.Soc.(section C)1385-1390

INTRODUCTION :

A l'époque où nous avions entrepris ce travail, un seul dérivé épiminé furanosidique avait été synthétisé. Or, les épimines en plus de leur pouvoir alkylant potentiel, sont des intermédiaires précieux pour des modifications ultérieures variées de l'hétérocycle oxygéné. Dans cet article nous décrirons la synthèse de plusieurs épimines de configuration "lyxo" ainsi que leur azidolyse.

CONCLUSION:

Les épimines sont facilement élaborées à partir de systèmes trans - azido-sulfonyle, par action d'aluminohydrure de lithium, suivant un mécanisme de cyclisation réductive. L'azidolyse des 2,3-épimines de configuration β-lyxofuranoside mène aux produits d'ouverture xylo et arabino correspondants, cette dernière étant la configuration prédominante.



PUBLICATION 1-G

THE SYNTHESIS OF METHYL-β-D-LYXOFURANOSIDE DERIVATIVES BEARING A FUSED OXAZOLINE RING.- par

S.D.GERO,J.HILDESHEIM,E.WALCZAK,R.D.GUTHRIE et C.W.SMITH (1970)

J.Chem.Soc. (section C.) 1402-1404.

INTRODUCTION :

Les oxazolines peuvent être considérées comme des précurseurs synthétiques immédiats de dérivés cis -aminoalcools (après traitement acide) Deux routes sont envisageables pour l'obtention d'oxazolines :

(a) le réarrangement d'une aroyl-épimine et

(b) la cyclisation directe à partir d'un système trans-acylamino-sulfonate. Ces deux voies n'avaient été que peu étudiées en série furanosique. Nous décrivons et discutons dans cet article la synthèse de plusieurs Δ^2-oxazolines.

CONCLUSIONS :

La cyclisation par le fluorure de sodium de dérivés trans-2-sulfonyl 3-benzamido xylofuranosides de méthyle mène spécifiquement aux phényloxazolines dont l'atome d'azote est lié au carbone-3 de l'hétérocycle oxygéné.(phényl-2 (2',3':5,4) Δ^2 - oxazolines). L'isomérisation d'épimines 2,3 N-acyl-lyxofuranosides mène elle sélectivement aux phényloxazolines dont l'atome d'azote est lié au carbone-2 de l'hétérocycle (phényl-2 (2',3': 4,5) Δ^2 -oxazolines).

Ainsi les deux méthodes présentées sont complémentaires et peuvent être utilisées avec profit pour la synthèse de dérivés cis-amino alcools.

1. R=COPh; R′=NH–COPh
2. R=COPh; R′=OH
3. R = Ph; R′=NH – COPh
4 R = Ph; R′=OH

5. R=COPh; R′=NH–COPh
6. R=COPh; R′=OH
7. R=Ph; R′=NH–COPh
8. R=Ph; R′=OH

PUBLICATION 1-H

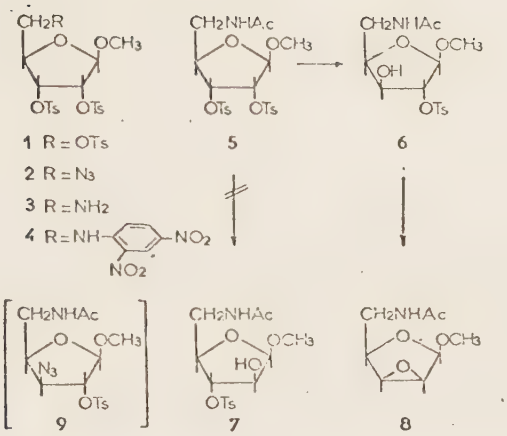
REACTIONS D'ASSISTANCE DE TYPE 1,3 EN SERIE RIBOFURANOSIQUE .- par J.HILDESHEIM, J.CLEOPHAX et S.D.GERO (1972) Bull.Soc.Chim.France,9,3450-3453.

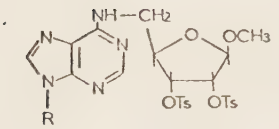
INTRODUCTION :

Il a été montré que des sulfonates portés par des carbones secondaires dans un cycle à cinq chaînons étaient suffisamment réactifs vis à vis de nucléophiles pour être aisément déplacés dans des solvants aprotiques et polaires. Le déroulement normal du déplacement S_N2 peut néanmoins être affecté, même sous des conditions opératoires idéales, lorsqu'un groupement de nature participante est convenablement situé par rapport au sulfonate considéré. Nous étudions, dans ce travail un tel cas, dans lequel l'assitance anchimérique d'un groupement voisin N-acétyle est prépondérante sur le déplacement direct d'un sulfonate secondaire par l'ion azide. En outre, la synthèse d'un modèle de nucléoside inversé (portant une base purique en 5') est décrite.

CONCLUSION :

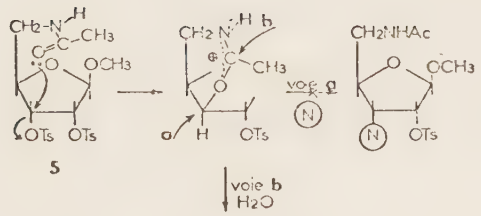
Il est montré par l'utilisation de nucléophiles variés que l'assistance d'un groupe acétamido de C-5 au déplacement du sulfonate de C-3 dans le di-O-p-toluène-sulfonyl-2,3 acétamido-5 désoxy-5 β-ribofuranoside de méthyle est dépendante de la basicité et de l'encombrement stérique du nucléophile utilisé. Un ion peu nucléophile et petit comme l'ion F^-, fortement basique favorise le mécanisme d'assistance, et de ce fait,la formation d'un ion oxazolinium alors que l'ion benzoate, encombrant, nucléophile et peu basique est peu favorable à ce mécanisme.





10 R =

11 R = H



Schéma

CHAPITRE II

PUBLICATION 1-I

ALCALOIDES STEROIDIQUES - C[1]: LES HOLANTOSINES A et B, NOUVEAUX AMINO-GLYCOSTEROIDES ISOLES DE FEUILLES DE L'HOLARRHENA ANTIDYSENTERICA (ROXB.)WALL. (APOCYNACEES).- par M.M.JANOT,Q.KHUONG-HUU, C.MONNERET,I.KABORE,J.HILDESHEIM,S.D.GERO et R.GOUTAREL (1970). Tetrahedron,26,1695-1709.

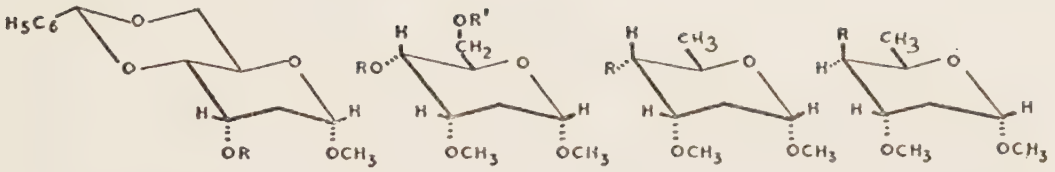
INTRODUCTION :

Trois alcaloïdes glycostéroides ont été isolés à l'Institut de Chimie des Substances Naturelles dans le Département du Professeur M.-M.Janot: l'holacurtine,l'holacurtéine et la mitiphylline. La structure commune du glycoside aminé à ces trois composé est la N-méthyl holosamine(N-methyl-4-O-méthyl-3 tridesoxy-2,4,5-D-ribohexopyranoside).

La structure de ce nouveau sucre aminé avait pu être proposé par ce groupe sur la base de mesures physiques. Nous avons entrepris la synthèse en vingt étapes de ce sucre à partir de l'α-D-glucopyranoside de méthyle.

CONCLUSIONS :

Nous avons confirmé par synthèse totale la structure de l'holosamine et de la N-méthyl holosamine, constituents des glycostéroïdes: holacurtine, holacurténine et mitiphylline. L'étape-clef de cette synthèse est une double inversion de configuration sur C-4 à l'aide de déplacements nucléophiles. Les produits synthétiques et naturels sont parfaitement identiques.

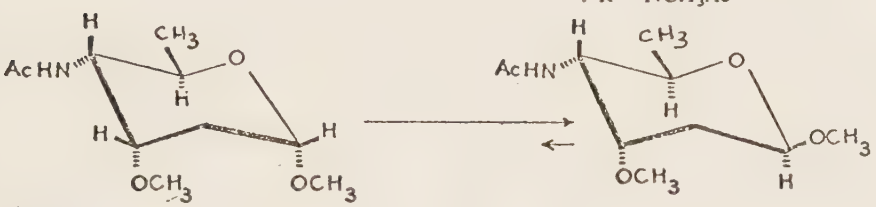


1 : R = H
2 : R = CH_3

3 : R = R' = H
4 : R = R' = Ts

5 : R = OTs
9 : R = N_3
10 : R = NH_2
11 : R = NHAc
12 : R = NCH_3Ac

6 : R = $OCOC_6H_5$
7 : R = OH
8 : R = OTs



: F = 154–156°; $[\alpha]_D$ +205°

: F = 159–163°; $[\alpha]_D$ +35°

CHAPITRE III

PUBLICATION 1-J

SYNTHESIS OF 2,4-DIACETAMIDO-2,4,6-TRIDEOXY-D-GLUCOSE FROM 2-ACETAMIDO-2-DEOXY-D-GLUCOSE AND ITS IDENTIFICATION WITH THE DIACETAMIDO SUGAR OF BACILLUS LICHENIFORMIS.- par

A.LIAV,J.HILDESHEIM,U.ZEHAVI et N.SHARON (1973)
Chem.Comm.

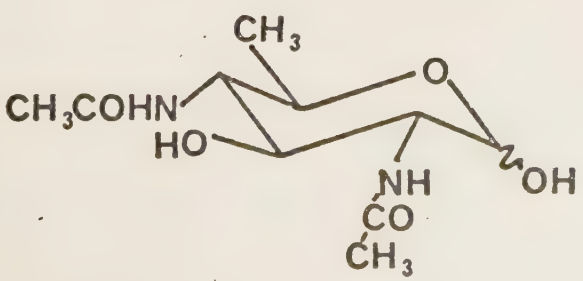
INTRODUCTION:

La bacillosamine fut découverte par SHARON et JEANLOZ en 1959. Sa structure est celle d'un 2,4 diacétamido 2,4,6 tridesoxyglucopyranoside. La synthèse de la bacillosamine a été achevée par une série de déplacements de type S_N2 effectuée sur le cycle hexopyranoside.

Nous donnons ici l'article préliminaire, néanmoins un article plus important rendant compte des difficultés de cette synthèse ainsi que des observations y afférant est actuellement sous presse; Carbohyd. Res. J.Hildesheim,A.Liav,U.Zehavi et N.Sharon (1974).

CONCLUSION :

La structure de la bacillosamine (diamino-2,4 tridesoxy-2,4,6 glucopyranoside) est confirmée par synthèse totale (10 étapes) à partir de la N-acetylglucosamine. "l'étape-clef" est une double inversion de configuration sur le carbone 4 de l'hexopyranoside.



SYNTHESE DE DERIVES DE SUCRES ET DE NUCLEOSIDES : UTILISATION ET EVALUATION BIOCHIMIQUE

La seconde partie de cette thèse se compose de neuf publications. dont les deux dernières sont sous-presse .

Ainsi que nous l'avons mentionné dans l'introduction générale, le travail synthétique est effectué dans le but, soit d'éclaircir le mode d'action de certaines protéines ou enzymes, soit de les purifier. Rappelons que lorsque la structure tridimensionnelle et le mécanisme d'action d'une enzyme n'est pas connu, l'utilisation d'inhibiteurs synthétiques est un moyen attrayant d'étude du site actif de l'enzyme ou de la protéine.

Nous décrirons un exemple de séparation par la technique de chromatographie par affinité, (purification de protéines liantes du L-Fucose) et un exemple de marquage spécifique de site enzymatique (celui de la β-galactosidase d'une souche de E.coli). Le troisième chapitre correspond à notre préoccupation actuelle : étude des méthyl transférases de t-ARN à l'aide d'inhibiteurs synthétiques. C'est ce dernier chapitre que nous développerons le plus.

CHAPITRE I

PUBLICATION 2A

THE USE OF 1-AMINO-L-FUCOSE BOUND TO SEPHAROSE IN THE ISOLATION OF L-FUCOSE BINDING PROTEINS par

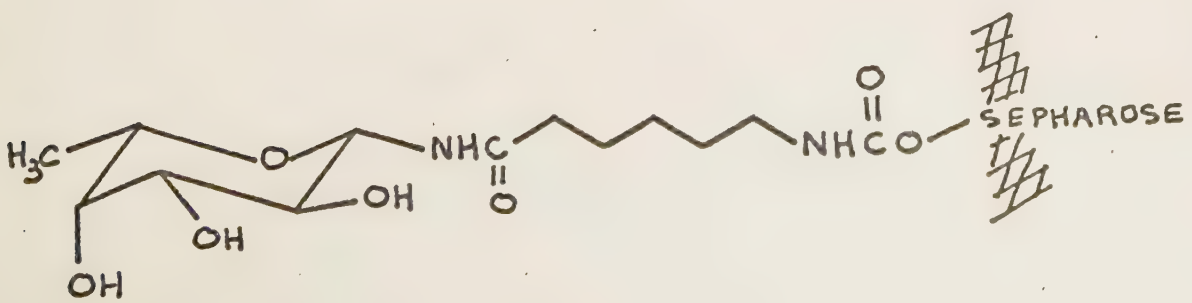
S. BLUMBERG, J. HILDESHEIM, J. YARIV and K.J. WILSON (1972) Biochim. Biophys. Acta, 264, 171-176.

INTRODUCTION :

Les dérivés 1-amino hexapyranosiques sont aisément synthétisés par action de l'ammoniac sur les sucres libres correspondants. Il est ainsi possible d'utiliser ces composés pour séparer à l'aide de la chromatographie d'affinité, des enzymes ou des protéines dont le substrat est un saccharide. A l'aide de cette technique, les trois protéines liantes du β-L-fucose ont pu être isolées et purifiées à partir d'un extrait de graines de Lotus tetragonolobus.

CONCLUSION :

La N- ε-aminocaproyl -β -L-fucopyranosylamine a été synthétisée et liée chimiquement au sépharose. Le support ainsi réalisé s'est révélé efficace pour la purification de protéines liantes du β -L-fucose.



CHAPITRE II

PUBLICATION 2B

LABELLING OF THE ACTIVE SITE OF β-GALACTOSIDASE BY N-BROMOACETYL β-D-GALACTOPYRANOSYLAMINE par

J. YARIV, K.J. WILSON, J. HILDESHEIM and S. BLUMBERG (1971)

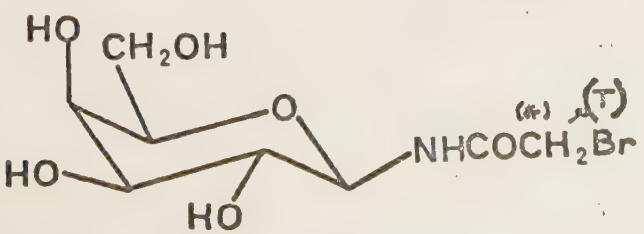
FEBS Letters, 15, 24-26.

INTRODUCTION :

La N-bromoacetyl-β-D-galactopyranosylamine marquée au tritium ou au carbone ^{14} (sur le méthylène du radical bromoacetyle) a été synthétisée et testée sur la β-galactosidase préparée à partir d'une souche E.coli K12 3300. Ce produit s'était révélé auparavant alkylant irréversible d'une lac-perméase. Néanmoins, dans ce dernier cas cette alkylation n'était pas spécifique au site de cette protéine.

CONCLUSION :

La β-galactosidase est alkylée au niveau de son site actif par la N-bromoacétyl-β-D-galactopyranosylamine. L'inactivation de l'enzyme suit une cinétique de premier ordre et consomme deux équivalents du réactif par site dont l'un attaque un SH réactif, cette fonction est aussi alkylable par un réactif non spécifique à cet enzyme comme la N-bromoacétyl β-L-fucopyranosylamine.



CHAPITRE III

ETUDE DE L'INHIBITION DE METHYL TRANSFERASES D'ACIDES RIBONUCLEIQUES DE TRANSFERT PAR DES ANALOGUES DE LA S-ADENOSYL HOMOCYSTEINE ET DE LA S-ADENOSYLMETHIONINE

Nous avons évoqué dans l'introduction générale les motivations qui nous ont incités à entreprendre la synthèse d'analogues de la S-adénosyl homocystéine ou de la S-adénosylméthionine. Signalons également que les tissus cancéreux et embryonnaires sont caractérisés par un haut degré de méthylation au niveau des t-ARN. Cette observation a incité de nombreux chercheurs à étudier les causes de cette hyper-méthylation. Il est maintenant établi que le taux de méthylation est dépendant, entre autres, de facteurs ioniques, du pH du milieu ou encore de la température. Parmi les facteurs ioniques, le rôle des polyamines a été mis en évidence de façon non ambiguë. Ils stimulent par leur caractère polycationique, la méthylation des t-ARN. La découverte d'inhibiteurs naturels de méthyl transférases a suggéré un mode possible de régulation de la méthylation : on sait que la S-adénosyl homocystéine (le produit de déméthylation de la S-adénosyl méthionine) exerce une action inhibitrice différentielle au niveau de méthyl transférases variées (11). D'autres inhibiteurs naturels ont été mis en évidence, c'est par exemple le cas de la nicotinamide qui s'est révélée être le cofacteur d'un enzyme dégradant le donneur de méthyle : S-adénosyl méthionine (16, 17). On trouve également des cytokinines et certains

de leurs analogues et d'une façon générale, les dérivés de l'adénine ou de l'adénosine (18-20). La synthèse d'inhibiteurs potentiels synthétiques est une conséquence directe de la découverte de ces inhibiteurs naturels (ou présumés tels).

Dans ce chapitre, nous présentons une série de publications qui résument notre activité dans ce domaine.

PUBLICATIONS 2C, 2D ET 2E

SYNTHESES D'INHIBITEURS DE METHYL TRANSFERASES ANALOGUES DE LA S-ADENOSYL HOMOCYSTEINE par

J. HILDESHEIM, R. HILDESHEIM et E. LEDERER (1973)
Biochimie, 53, 1067-1071.

NOUVELLES SYNTHESES D'ANALOGUES DE LA S-ADENOSYL HOMOCYSTEINE, INHIBITEURS POTENTIELS DES METHYL TRANSFERASES

J. HILDESHEIM, R. HILDESHEIM et E. LEDERER (1972)
Biochimie, 54, 431-437.

INHIBITEURS SYNTHETIQUES DE METHYL TRANSFERASES

J. HILDESHEIM, R. HILDESHEIM, P. BLANCHARD et E. LEDERER
Bull. Soc. Chim. Fr., sous presse.

INTRODUCTION

En 1955 Baddiley et Jamieson publiaient la première synthèse de la S-adénosyl homocystéine (SAH) (21).

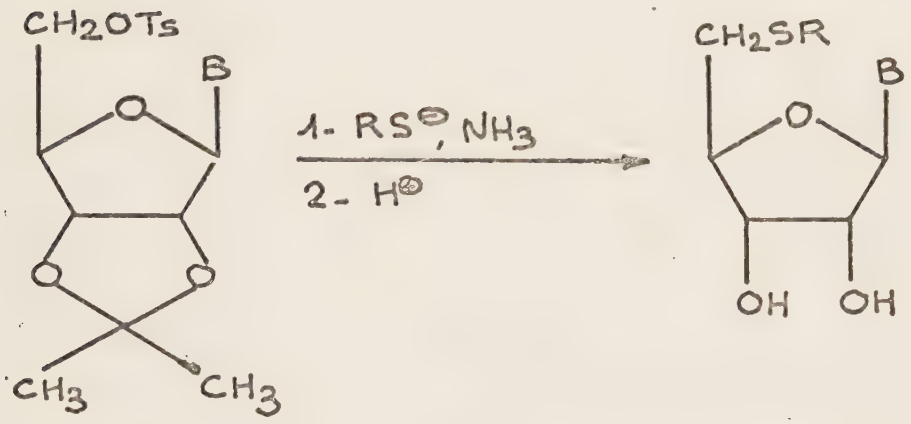
Cette synthèse fait intervenir le déplacement du tosylate en 5' du 2', 3'-O-isopropylidène, 5'-O-p-toluène sulfonyl adénosine par l'ion homocystéinate dans l'ammoniac liquide.

Nous pensons que ce déplacement n'est pas de type "S_N2 pur*", mais fait probablement appel à l'assistance des électrons de N_3 du noyau purique.

---

* Par exemple, nous n'avons pu déplacer sous les mêmes conditions, le tosylate du 2', 3'-O-isopropylidène, 5'-O-p-toluènesulfonyl β-D-ribofuranoside de méthyle par l'ion homocystéinate.

Nous avons synthétisés un certain nombre d'analogues de la SAH, susceptibles d'inhiber les réactions de transméthylations biologiques, suivant la méthode originale de Baddiley et Jamieson.



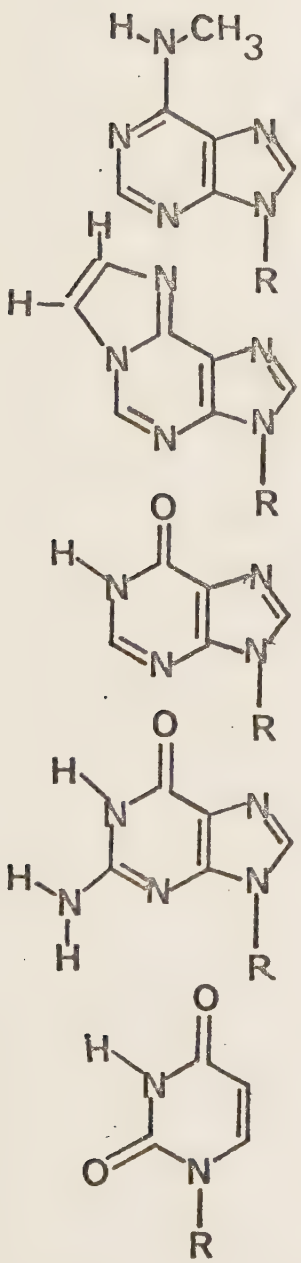
CONCLUSION :

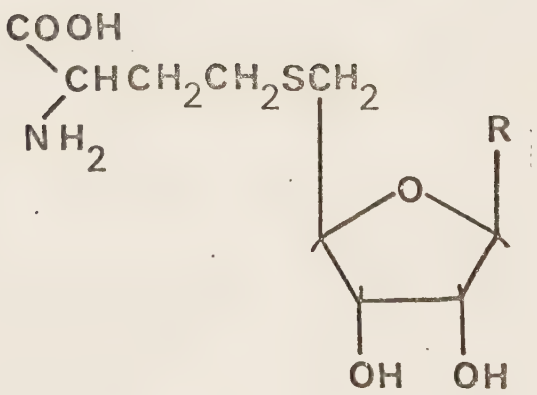
Les modifications apportées à la structure de la S-adénosyl homocystéine (SAH) ont porté :

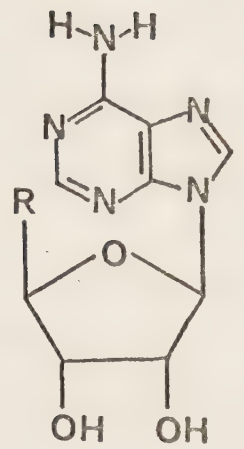
a - sur la nature de la base : en particulier, avec les synthèses de la S-guanosyl homocystéine, de la S-uridyl homocystéine, de la S-inosyl homocystéine, de la S-[N^6-methyl-adénosyl] homocystéine ou de la S-adénosyl homocystéine "fluorescente".

b - Ces modifications ont porté également sur la nature de la chaîne latérale en 5' avec les dérivés cystéine, cystéamine, chloroéthyle, azidoéthyle, thioalkyles, thiopropionique, thioéthanol, etc... Bien qu'en principe, la synthèse de tous ces produits ne pose pas de problèmes majeurs, leur isolement

est rendu parfois difficile, voire problématique du fait de leur instabilité vis-à-vis d'agents acides, alcalins, de par leur tendance à s'oxyder rapidement à l'air etc...







R=$CH_2SCH_2CH_2CH(NH_2)COOH$ l,dl,d

$CH_2SCH_2CH(NH_2)COOH$ l

$CH_2SCH_2CH_2NH_2$

$CH_2SCH_2CH_2COOH$

$CH_2SCH_2CH_2OH$; $CH_2OCH_2CH_2OH$

$CH_2SCH_2CH_2CH(NHAc)COOH$

$CH_2SCH_2CH_2NHAc$

$CH_2SCH_2CH(CH_3)_2$

$CH_2SCH_2CH_2CH_2CH_3$

$CH_2SCH_2CH_2CH_2CH_2CH_3$

$CH_2S^{+}(CH_3)CH_2CH_2CH(NH_2)COOH$

PUBLICATIONS 2F ET 2G

ETUDE DE L'INHIBITION D'UNE t-ARN N_2-GUANINE METHYL TRANSFERASE DE FOIE DE LAPIN PAR DES ANALOGUES DE LA S-ADENOSYL HOMOCYSTEINE par

J. HILDESHEIM, R. HILDESHEIM, E. LEDERER et J. YON (1972)
Biochimie, 54, 989-995

STUDIES ON SYNTHETIC INHIBITORS OF t-RNA METHYL TRANSFERASES : ANALOGS OF S-ADENOSYL HOMOCYSTEINE par

J. HILDESHEIM, R. HILDESHEIM, P. BLANCHARD
G. FARRUGIA and R. MICHELOT (1973)
Biochimie, 55, 541-546.

INTRODUCTION:

Pour des raisons exposées dans l'introduction générale, l'évaluation du pouvoir inhibiteur des composés synthétisés est une suite logique à leur élaboration. Bien que l'enzyme avec lequel nous avons travaillé ne soit que partiellement purifié*, il est possible de tirer des conclusions quant au mode d'interaction enzyme-inhibiteur. Rappelons que la préparation enzymatique, isolée de foie de lapin, est riche en activité N-2 guanine méthyl transférase. Les t-ARN sont soit non fractionné soit spécifique (t-ARN f met) et sont isolés de E.coli . Le donneur de méthyle est la S-adénosyl méthionine méthyle ^{14}C.

Le pouvoir inhibiteur des substances synthétiques est mesuré dans des conditions sous lesquelles l'enzyme est limitant.

---

* A notre connaissance, aucune purification n'a été décrite dans la littérature.

Nous avons tenté de déterminer le type d'inhibition obtenu à l'aide des produits synthétiques. Cette détermination est souvent difficile à réaliser avec notre système peu homogène. Néanmoins, un certain nombre de produits se sont révélés être des inhibiteurs compétitifs ainsi que nous le verrons dans les deux publications suivantes.

CONCLUSION :

Des analogues structuraux de la S-adénosyl homocystéine ont été testés pour leur activité inhibitrice sur une N^2-guanine methyl transférase ou sur un extrait total de méthyl transférases isolé de foie de lapin. Le substrat accepteur est soit le t-ARN de E.coli B non fractionné, soit le t-ARN f met de E.coli

D'une façon générale les dérivés de l'adénine sont inhibiteurs, (S-adénosyl L, D, L ou D homocystéine ; S-N^6-methyl adénosyl homocystéine). L'adénine peut néanmoins être remplacée par la guanine. (La S-guanosyl homocystéine est un inhibiteur encore efficace de la méthylation). Par contre, la S-inosyl homocystéine, la S-uridyl homocystéine, la S-adénosyl homocystéine "fluorescente" sont pratiquement dépourvues d'activité inhibitrice.

Concernant la chaîne latérale en 5', il est montré que la fonction amine est importante pour la fixation de l'inhibiteur à l'enzyme, par contre le carboxyle ne contribue que faiblement à cette interaction. La longueur de la chaîne homocystéine peut être réduite à la valeur d'un atome (S-adénosyl-cystéine, S-adénosyl cystéamine, S-isobutyl adénosine) sans pour autant perdre l'activité inhibitrice. Celle-ci est néanmoins suivant les cas, diminuée. Nous reviendrons dans la discussion sur les résultats obtenus.

PUBLICATION 2H

SELECTIVE INHIBITION OF t-RNA METHYL TRANSFERASES BY S-ADENOSYL HOMOCYSTEINE AND TWO OF ITS ANALOGUES par

J. HILDESHEIM, J.F. GOGUILLON et E. LEDERER (1973)

FEBS Letters, 30, 177-180.

INTRODUCTION :

La S-adénosyl homocystéine est un inhibiteur puissant de presque toutes les méthyl transférases testées. Cependant, il est connu que celle-ci n'agit pas de façon identique au niveau de toutes les méthyl transférases. On sait que l'hyperméthylation des t-ARN observée dans les tissus cancéreux et embryonnaires est controversée : en particulier, il a été montré que le cours de la méthylation dépendait pour une large part de la force ionique du milieu. Dans cette publication, nous suggérons que la S-adénosyl homocystéine est un régulateur efficace du processus d'alkylation des t-ARN et que le spectre de méthylation obtenu ("in vitro") est pour le moins conditionné par l'affinité relative de chaque méthyl-transférase pour la S-adénosyl homocystéine, toutes choses égales par ailleurs.

CONCLUSION :

A concentration égale de S-adénosyl homocystéine, les méthyl transférases "majeures" sont moins inhibées que les "mineures". Il est concevable que le pourcentage des bases méthylées observé après hydrolyse des t-ARN résulte pour une large part de l'affinité de la S-adénosyl homocystéine pour telle ou telle méthyl transférase. En d'autres termes le spectre de méthylation n'est pas forcément repré-

sentatif de la distribution des diverses méthyl transférases dans l'extrait enzymatique. Transposé "in vivo", on peut envisager que l'hypothèse (controversée) suivant laquelle des néométhylases seraient induites dans des tissus cancéreux ou des cellules transformées et menant à une "hyperméthylation", pourrait être le résultat d'une interprétation hâtive du phénomène d'hyperméthylation. On peut en effet imaginer que l'environnement ionique d'une cellule cancéreuse diminue l'affinité de la SAH pour une méthyl transférase normalement inhibée et révélant de ce fait son activité qui, dans une cellule normale ne serait pas détectée. Ce phénomène peut être une des raisons du changement dans la distribution des bases méthylées, observé dans certains tissus tumoraux.

Dans cet article, il est également montré qu'un inhibiteur synthétique comme la S-adénosyl cystéamine est capable d'inhiber avec une sélectivité différente de la S-adénosyl homocystéine, l'action des méthyl transférases de l'extrait enzymatique utilisé.

PUBLICATION 2I

A BASE PAIRING HYPOTHESIS FOR t-RNA METHYLATION par
J. HILDESHEIM, P. BLANCHARD et R. MICHELOT
Experientia, (1974)

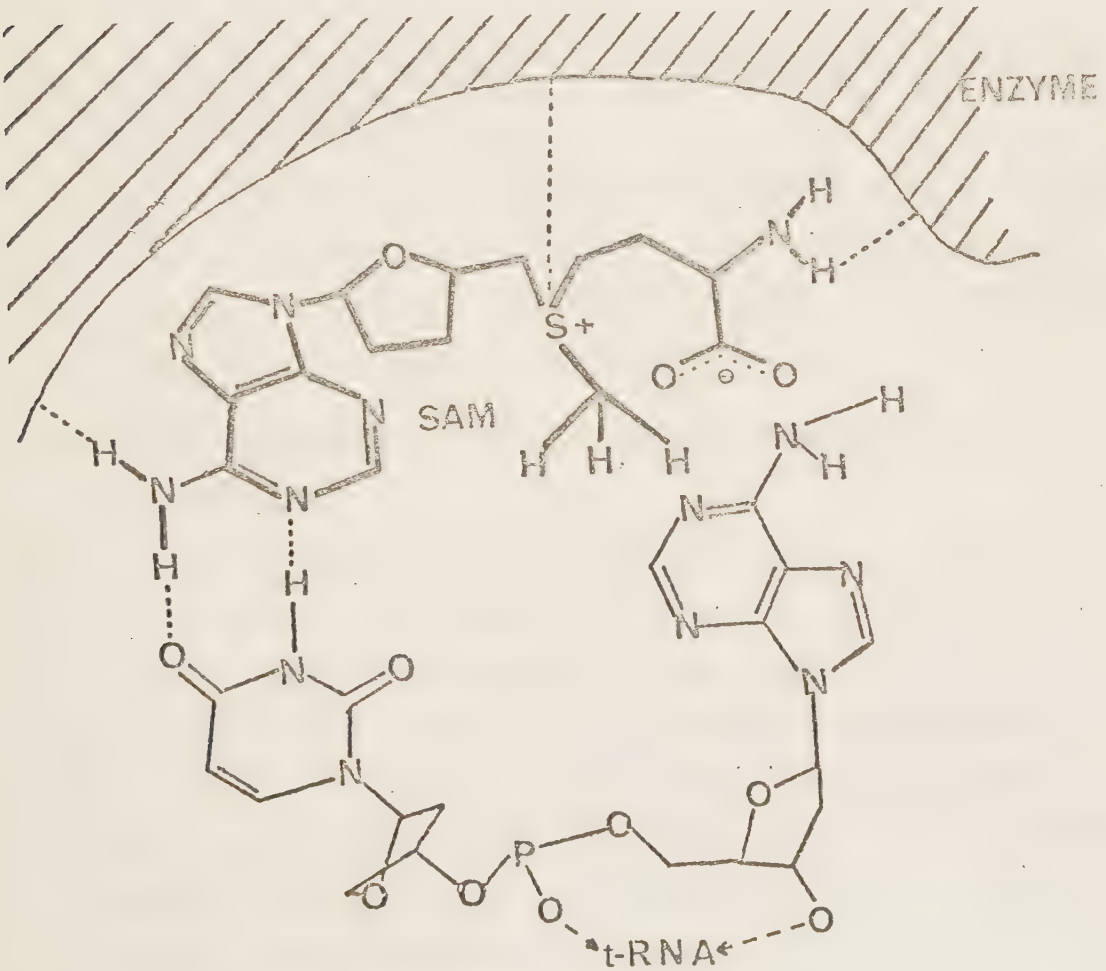
INTRODUCTION :

L'un des problèmes passionnants qui se pose au biochimiste des méthyl transférases est le mode de reconnaissance entre l'enzyme et son site correspondant sur le t-ARN. Il semble qu'une séquence particulière de nucléosides à proximité du site méthylable ne soit pas suffisante et qu'une conformation tertiaire du substrat soit nécessaire. Nous évoquons dans cette publication une hypothèse de transméthylation "in vivo" des t-ARN basée sur l'examen statistique des séquences primaires et secondaires connues des t-ARN.

CONCLUSION :

Il est montré qu'un nucléoside méthylé se trouve souvent adjacent à une uridine ou à un dérivé ou analogue [U] (128 cas sur 154 nucléosides méthylés). Cette situation ainsi que le montre le calcul n'est pas due au hasard. De ce fait, nous avons émis l'hypothèse de travail suivante :

Le complexe S-adénosyl méthionine-enzyme est lié à une uridine ou dérivé ou analogue [U] du t-ARN par l'intermédiaire des liaisons hydrogènes complémentaires ([U]---Adénosyl méthionine). Il s'agit alors d'un complexe ternaire déterminant la méthylation sur un nucléoside adjacent à [U]. Un modèle moléculaire rend mieux compte de cette situation : le site alkylable du nucléoside adjacent à [U] peut se trouver en regard du méthyl sulfonium de la S-adénosyl méthionine. Signalons que la base méthylée la plus fréquemment rencontrée, la thymine T se trouvant dans la boucle "GTUC" suit évidemment sans exception cette hypothèse. Par contre la 2 méthyl guanine n'est jamais adjacente à [U] et représente donc une exception notable. Néanmoins de façon globale, il nous semble que cette observation représente une hypothèse de travail valable.



DISCUSSION GENERALE DES RESULTATS D'INHIBITIONS OBTENUS : RELATION AVEC LES CONSEQUENCES THEORIQUES DU MODELE PROPOSE

La représentation du site actif d'une méthyl transférase est capitale pour la suite de notre programme. Même imparfaite, elle permet d'imaginer les facteurs importants gouvernant l'intéraction enzyme-substrats. De plus dans un domaine plus pratique, elle permet de connaître (de façon approximative) quels sont les sites de l'inhibiteur pouvant être substitués ou fonctionnalisés afin de marquer spécifiquement l'enzyme ou d'effectuer la chromatographie d'affinité. Les résultats des tests d'inhibition effectués permettent de répondre en partie à ces préoccupations.

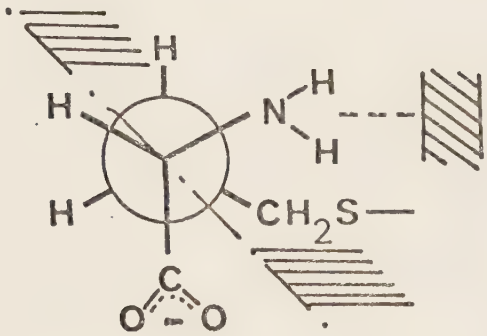
A - L'amine terminale de la SAH est une fonction importante pour l'intéraction avec l'enzyme.

Cette intéraction fait intervenir une liaison hydrogène plutôt qu'ionique puisque le dérivé 5'thio éthanol adénosine est encore inhibiteur. L'hydroxyle terminal est capable de remplacer partiellement l'amine de la 5' S-adénosyl cystéamine.

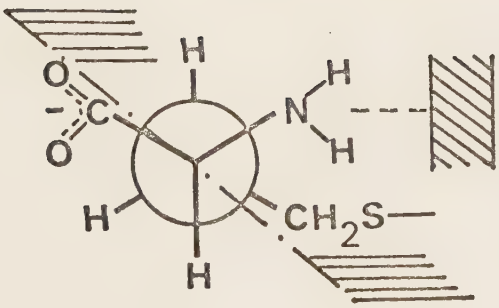
B - Le carboxyle terminal ne contribue que faiblement à l'intéraction avec l'enzyme.

Cette hypothèse est supportée par le fait que la S-adénosyl D-homocystéine est un excellent inhibiteur compétitif de la méthylase. De plus, rappelons que l'acide 5'-S-adénosyl thiopropionique n'est que faiblement inhibiteur ce qui confirme la faible contribution de la fonction carboxyle au processus de liaison avec l'enzyme. Nous avons suggéré que ce carboxyle occupe, soit un loccus non stratégique du site de l'enzyme, soit qu'il pointe vers l'extérieur de ce dernier. Dans cette dernière hypothèse il devrait être dérivable par un groupement sans perte notoire du pouvoir inhibiteur (utile pour la chromato-

graphie d'affinité par exemple).



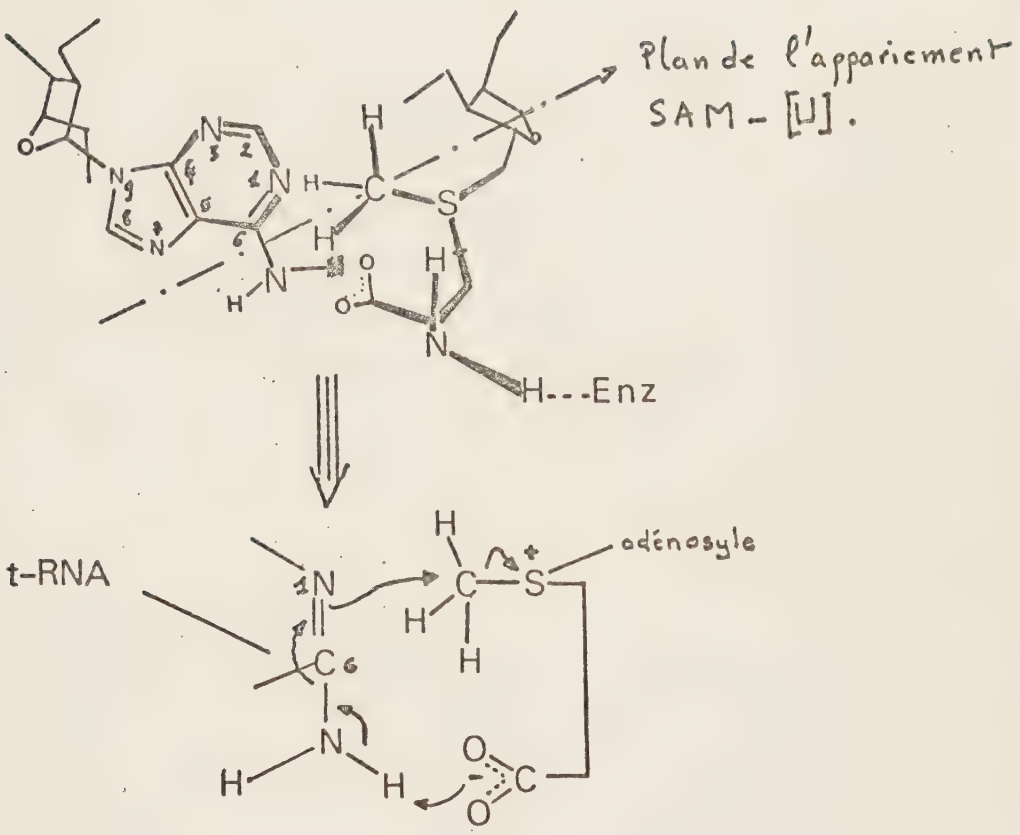
D SAH
Ki 40µM



L SAH
Ki 17 µM

Ce modèle moléculaire suggère,alors,un mécanisme de transméthylation.

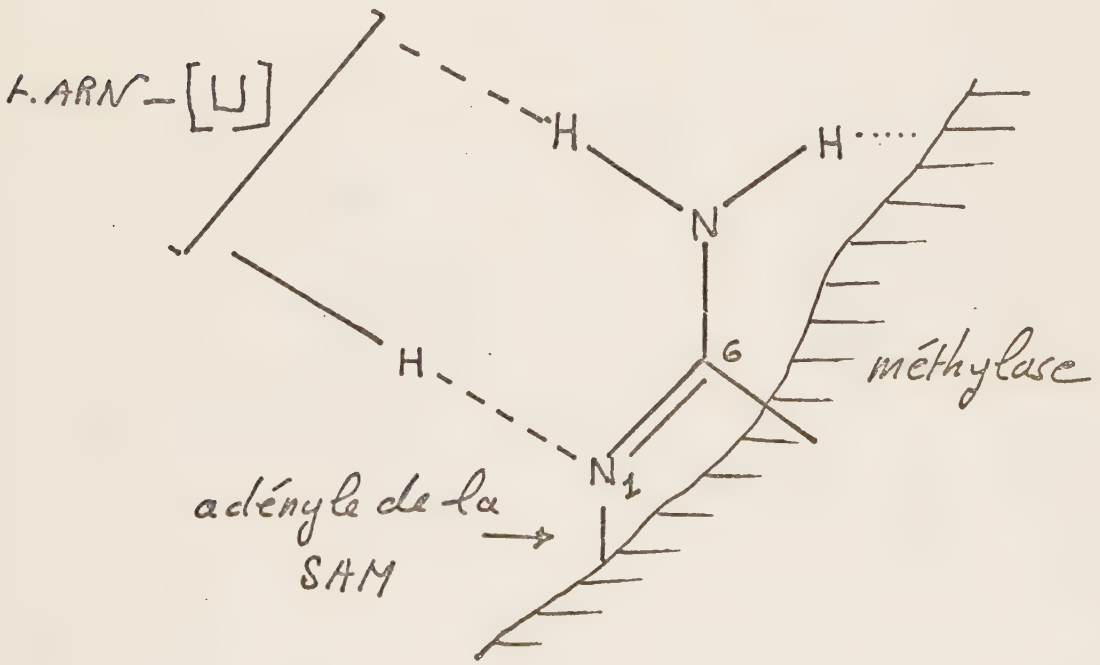
Le carboxyle terminal (sous forme de carboxylate) ne contribuant que faiblement à la fixation de la SAM à l'enzyme serait à même de déprotonner un atome adjacent au site méthylable. Ce phénomène pourrait être la première étape d'un mécanisme concerté de déméthylation de la SAM par le substrat ainsi qu'il est indiqué dans le schéma ci-après.



Méthylation du t.ARN : mécanisme hypothétique.
(ex. méthylation en position N1 d'une adénine du t. ARN.

C - L'un des protons du NH_2 en 6 de la S-adénosyl méthionine serait lié à l'enzyme.

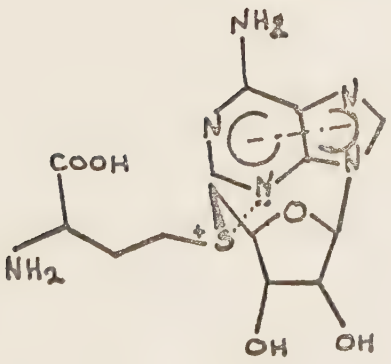
L'autre proton serait engagé dans l'appariement avec l'uridine du t-ARN : la S-N^6-methyl adénosyl-homocystéine* est un excellent inhibiteur compétitif, ce qui est en faveur du fait qu'un seul proton de N^6 est lié à l'enzyme. Rappelons que lorsque ce proton est absent, il n'y a plus d'inhibition (S-inosyl homocystéine, S-adénosyl homocystéine "fluorescente"). Vis-à-vis du modèle proposé, cela signifie que l'amine en 6 de la SAM devrait être "dégagée" du site ainsi que la région N^1 de l'adényle pour que le processus d'appariement ait lieu .

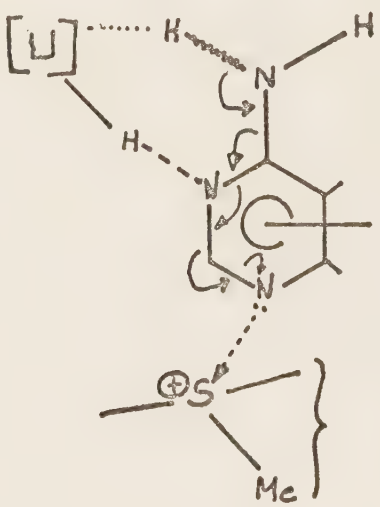


* Ce composé s'est révélé faiblement inhibiteur d'une catéchol-méthyl transférase. Ce qui semblerait indiquer que l'amine en 6 de la SAM doit être intégralement conservée pour l'intéraction avec cet enzyme D. Barth (Marburg). Communication personnelle.

D'autre part , pour que le modèle demeure valable, il faut que l'uridine ou son analogue [U] du t-ARN soit stériquement disponible pour l'appariement avec la SAM. Il semble que ce soit le cas puisque les nucléosides méthylés sont le plus souvent situés dans des régions non auto-appariées (boucles) du t-ARN. Il en est de même pour les [U] adjacents.

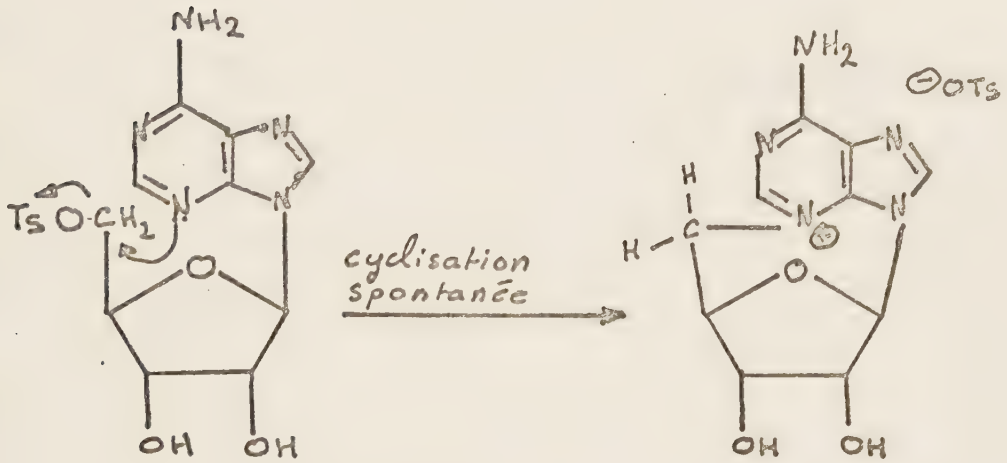
D - La S-adénosyl méthionine sous sa forme active devrait se trouver dans une conformation syn. Une telle conformation comme le montre un modèle, permet une stabilisation du pôle sulfonium par la charge électronique présente sur N-3 . Celle-ci entraîne une délocalisation d'électrons sur N-6 avec pour conséquence une augmentation d'énergie d'appariement avec [U].



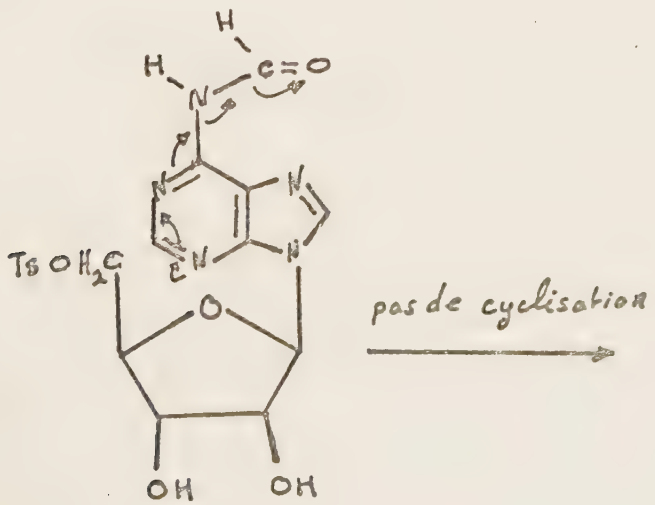


Une autre conséquence de cette stabilisation serait la diminution du niveau d'énergie de l'état de transition pendant le processus de déméthylation. La représentation syn de la molécule de SAM "active" due à la charge électronique présente sur N-3

est en accord avec la réactivité chimique de certains dérivés de l'adénosine : par exemple l'on connait la cyclisation spontanée en milieu aprotique du 5' tosyl adénosine en N-3-C'-5 cyclo-adénosine.

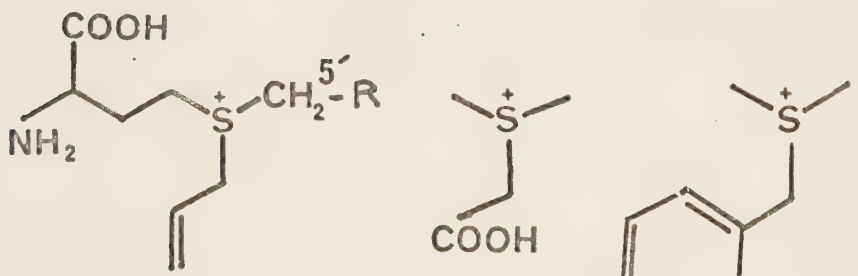


D'ailleurs une telle cyclisation n'a pas lieu si la charge électronique sur N-3 est diminuée ;à titre d'exemple,notons que la N^6-formyl 5'tosyl adénosine est stable.



E - Le méthyle de la S-adénosyl méthionine devrait être accessible au substrat t-ARN et vu la dimension de ce dernier, ce méthyle devrait pointer hors du site de l'enzyme. Si cette hypothèse est correcte le remplacement du méthyle de SAM par un groupement stériquement plus important ou chargé devrait mener à des composés encore inhibiteurs c'est-à-dire capables d'occuper le site enzymatique de façon productive. Il semble que ce soit le cas ainsi que le montrent les expériences suivantes.

La S-adénosyl homocystéine allyl sulfonium L (a), la S-adénosyl homocystéine carboxyméthylène sulfonium (b) et la S-adénosyl homocystéine benzyl sulfonium (c) ont été synthétisées et testées pour leur activité inhibitrice en présence de notre système enzymatique usuel.



(a) D et L

(b) D et L

(c) D et L

R = adénosyl.

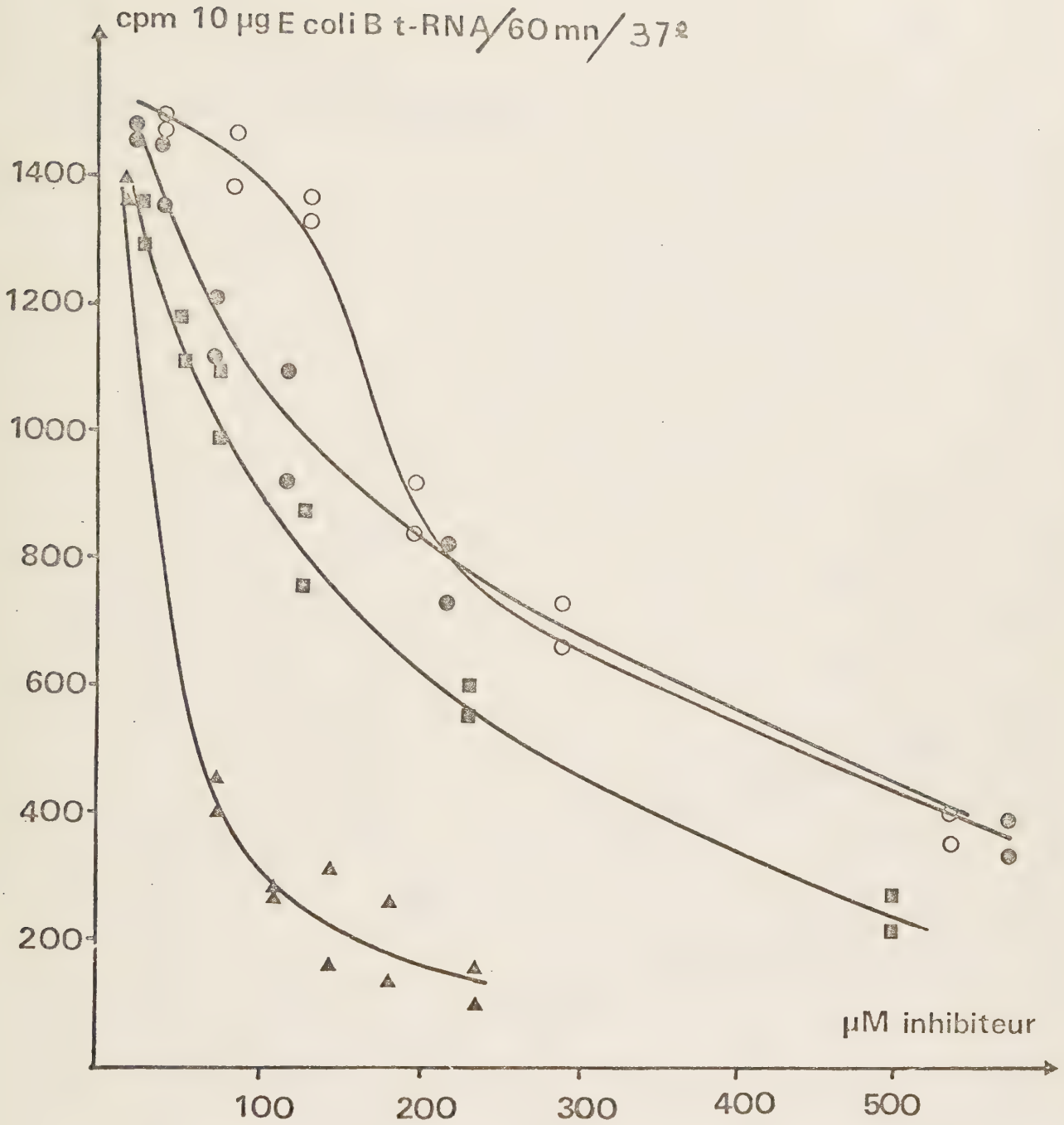
Dans tous les cas ces composés se sont révélés être de bons inhibiteurs de la N_2-guanine méthyl transférase étudiée.

Ces résultats n'étant pas encore publiés, nous donnons ci-dessous quelques figures d'inhibition.

(Il est concevable que certains analogues synthétiques de la S-adénosyl méthionine puissent céder le radical alkyle lié au pôle sulfonium. Une transalkylation à l'aide d'une méthylase serait alors envisageable).

Dans les trois figures d'inhibition qui vont suivre et sauf mention, les essais sont incubés à 37º pendant 1 heure, dans un volume total de 0,2ml. Chaque essai contient, sauf mention:

50umoles SAM méthyl ^{14}C (activité spécifique: 50mCi/mmole)
5mmoles $MgCl_2$
5mmoles 2-mercapto-éthanol
50mmoles Tampon Tris-HCl, pH 8,2
180ug de l'enzyme (déterminés par la méthode de Lowry)
et les inhibiteurs aux concentrations indiquées.



INHIBITION D'UNE N^2GUANINE METHYL TRANSFERASE PARTIELLEMENT PURIFIEE A PARTIR DE FOIE DE LAPIN, PAR QUELQUES ANALOGUES DE LA SAM.

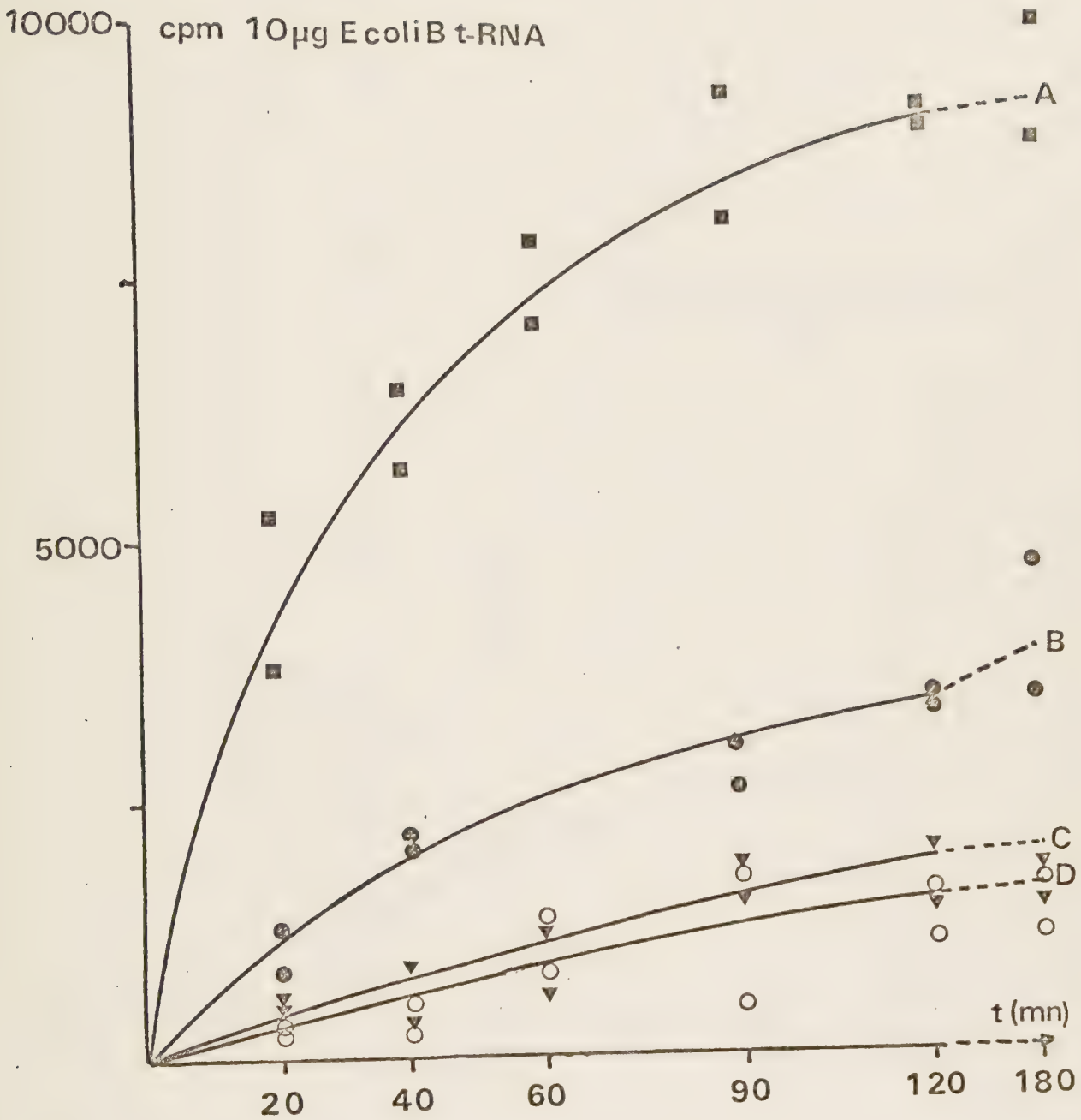
▲ L SAH(±)allyl sulfonium; $I_{0,5}$:50µmoles

■ D SAH(±)allyl sulfonium; $I_{0,5}$:130µmoles

○ D SAH(±)carboxyméthylène sulfonium; $I_{0,5}$:210µmoles

● DL SAH(±)benzyl sulfonium; $I_{0,5}$:235µmoles

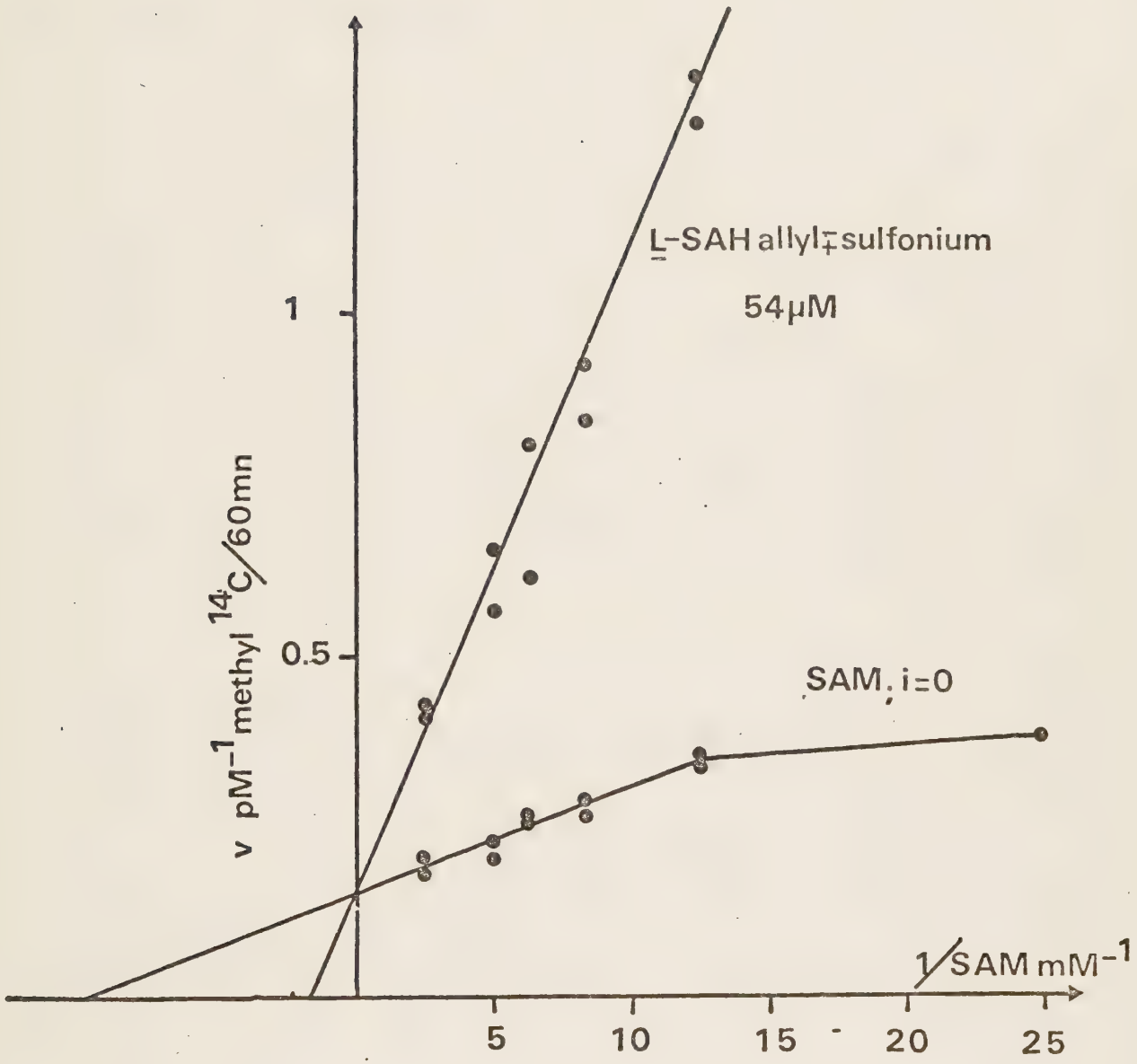
$I_{0,5}$=Quantité de produit necessaire pour inhiber de 50 p.cent, la réaction de transméthylation.



INFLUENCE DE QUELQUES ANALOGUES DE LA SAM SUR LA METHYLATION DE t-ARN(La méthylase est isolée à partir de foie de lapin).

- ■ SAM:50 µmoles
- ● SAM:50 µmoles+DL SAH(±)benzyl sulfonium:289 µmoles
- ▼ SAM:50 µmoles+ D SAH(±)carboxyméthylène sulfonium :535 µmoles
- ○ SAM:50 µmoles+ L SAH(±)allyl sulfonium :75 µmoles

Quantités par essai(0,2ml).



COURBE D'INHIBITION PAR L SAH(±)ALLYL SULFONIUM SELON LINEWEAVER ET BURK.

CONCLUSION DU CHAPITRE 3

A la lumière de résultats expérimentaux obtenus sur l'inhibition de méthyl transférases de t-ARN par des inhibiteurs synthétiques, un certain nombre d'hypothèses de travail ont été émises. Celles-ci visent surtout à la représentation des substrats SAH ou SAM dans le site enzymatique, au mécanisme de la méthylation proprement dit et au complexe hypothétique ternaire Enzyme - SAM t-ARN .

Les conséquences pratiques de ces observations sont encore éloignées, néanmoins nous pouvons suggérer trois sites potentiels de dérivation chimique de la S-adénosyl homocystéine à des fins de chromatographie d'affinité ou d'alkylation du site enzymatique, qui sont :

a) - le carboxyle terminal de SAH
b) - l'amine en N^6 de la moitié adénylique
c) - le pôle sulfonium.

D'autre part il n'est pas impossible que les composés synthétisés puissent servir à des fins thérapeutiques. Nous n'avons rien entrepris dans ce domaine jusqu'à ce jour.

CONCLUSION GENERALE

Cette thèse est divisée en deux parties ; chacune, répondant à des préoccupations différentes.

La première partie porte sur l'étude de la réactivité chimique des sucres pentofuranoses et hexopyranoses. L'intérêt est loin d'en être académique car les systèmes synthétisés représentaient et représentent souvent des voies nouvelles d'obtention d'amino sucres ou d'aminonucléosides d'intérêt biologique évident. De plus, l'expérience acquise dans ce domaine a été déterminante pour les autres sujets traités dont les synthèses totales de l'holantosine ou de la bacillosamine.

La seconde partie de la thèse met en jeu une chimie plus "pratique". En contrepartie, elle permet l'étude de phénomènes biochimiques. De ce fait l'optique est ici différente puisque les synthèses ont pour but d'élaborer des produits substratsou inhibiteurs. Ces derniers permettent l'étude de phénomènes biochimiques. Il est évident que notre approche dans ce domaine demeure conditionnée par la "vision chimique" des phénomènes. Néanmoins en ce qui concerne le dernier chapitre, il nous semble que les hypothèses émises sont une base de départ solide à des études sur lesquelles nous sommes d'ores et déjà activement engagés.

BIBLIOGRAPHIE ADDITIONNELLE

1 - J.W. PORTER, R.I. HEWITT, C.W. HESSELTINE, G. KRUPKA, J.A. LOWERY, W.S. WALLACE, N. BOKONOS et J.H. WILLIAMS, (1952)
Antibiotics Chemotherapy, 2, 409.

2 - N.N. GERBER et H.A. LECHEVALIER, (1962)
J.Org.Chem., 27, 1731.

3 - M.M. JANOT, P. DEVISSAGUET, Q. KHUONG-HUU, J. PARELLO, N.G. BISSET et R. GOUTAREL, (1968)
C.R.Acad.Sc. Paris, 266, 388.

4 - M.M. JANOT, M. LEBOEUF, A. CAVE, R. WIJESEKERA et R. GOUTAREL, (1968)
C.R.Acad.Sc.Paris, 267, 1050.

5 - N. SHARON and R.W. JEANLOZ, (1959)
Biochim.Biophys.Acta, 31, 277, et (1960), J.Biol.Chem., 235, 1.

6 - Voir par exemple :
J. PORATH, R. AXEN and S. ERNBACK, (1967)
Nature, 215, 1491.
et R. AXEN, J. PORATH and S. ERNBACK,(1967)
Nature, 214, 1302.

7 - Voir par exemple : P. CUATRECASAS, (1970)
J.Biol.Chem., 245, 3059.

8 - Voir par exemple : J.L. STARR and B.H. SELLS, (1969)
Physiol.Rev., 49, 623.

9 - E. BOREK and J. CHRISTMAN, (1965)
J. Fed.Proc., 24, 292.

D.J. PILLINGER, J. HAY and E. BOREK, (1969)
Biochem.J., 114, 429.

10 - F. CRAMER, (1971)
Progr. in Nucleic Acid Res. and Mol.Biol., 11, 429.

11 - Voir la récente revue de S.J. KERR et E. BOREK, (1972)
Adv. in Enzymology, 36, 1.

12 - E. BOREK and P.R. SRINIVASAN, (1966)
Ann. Rev. Biochem., 35

13 - P.R. SRINIVASAN and E. BOREK, (1966)
Progr.Nucleic Acid Res. and Mol.Biol., 5, 157.

14 - E. LEDERER, (1965)
Israel J.Med.Sci., 1, 1129.

15 - M. GOLD, J. HURWITZ and M. ANDERS, (1963)
Proc.Nat.Acad.Sci.US., 50, 164.

16 - Y. KUCHINO and H. ENDO, (1972)
J. Biochem., 71, 719.

17 - H.J. GROSS and D. VILDENAUER, (1972)
Biochem.Biophys.Res.Comm., 48, 58.

18 - E. WAINFAN and E. BOREK, (1967)
Mol.Pharmacol., 3, 595.

19 - B.G. MOORE and R.C. SMITH,(1969)
Can.J.Biochem., 47, 561.

20 - E. WAINFAN and B. LANDSBERG, (1971)
FEBS Letters, 19, 144.

21 - J. BADDILEY and G.A. JAMIESON, (1955)
J.Chem.Soc., 1085.

PUBLICATIONS DE L'AUTEUR
RELATIVES AUX SUJETS TRAITES DANS CETTE THESE

- Déplacement nucléophile d'un ester p-toluènesulfonique "exo" sur pentofuranose. Nouvelle méthode d'accès au 3-deoxy-D-érythro-pentose.
  J. DEFAYE et J. HILDESHEIM, (1967)
  Carbohyd.Res., 4, 145.

- Réactions de di-O-toluène p-sulfonates secondaires viccinaux en série tétrahydrofurannique avec l'iodure de sodium.
  J. DEFAYE et J. HILDESHEIM, (1967)
  Bull.Soc.Chim.France, 11, 940.

- Synthèses dans la série des 2, 5 anhydrides de sucres : Solvolyse d'esters sulfoniques.
  J. DEFAYE et J. HILDESHEIM, (1968)
  Tetrahedron Letters, 313.

- Synthesis and chemistry of 5-amino 5-deoxyribose derivatives : Preparation of modified nucleosides.
  J. HILDESHEIM, J. CLEOPHAX, S.D. GERO and R.D. GUTHRIE,(1967)
  Tetrahedron Letters, 5013.

- Introduction d'une insaturation dans un système tétrahydrofurannique.
  J.CLEOPHAX, J. HILDESHEIM et S.D. GERO, (1967)
  Bull.Soc.Chim.France, 11, 4111.

- Introduction successive de fonctions azotées dans des systèmes tétra-hydrofuranniques.
  J. CLEOPHAX, J. HILDESHEIM, R.E. WILLIAMS et S.D. GERO,(1968)
  Bull.Soc.Chim.France, 12, 1415.

- Synthèse de dérivés épimino-tétrahydrofurannes.
  J.CLEOPHAX, J. HILDESHEIM, A.M. SEPULCHRE et S.D. GERO, (1969)
  Bull.Soc.Chim.France, 13, 153.

- Déplacements en série méthyl furanoside : Synthèse de dérivés du 2, 3, 5-triamino-2, 3, 5 tridéoxy-D-arabinose et D-xylose.
  J. HILDESHEIM, J. CLEOPHAX, A.M. SEPULCHRE et S.D. GERO, (1969)
  Carbohyd.Res., 9, 315.

- Selective reactivity of the hydroxyls of methyl quinate towards acylating agents.
  D. MERCIER, J. CLEOPHAX, J. HILDESHEIM, A.M. SEPULCHRE et S.D. GERO, (1969)
  Tetrahedron Letters, 2497.

- Synthèse de dérivés pyrrolidiniques. Cyclisation intramoléculaire conduisant au 1, 4: 2, 5-dianhydro-2, 3, 4-tri-désoxy-2, 4-bis (p-toluènesulfonamido)-D-thréo-pentitol.
  A.M. SEPULCHRE, J. CLEOPHAX, J. HILDESHEIM et S.D. GERO, (1970)
  Carbohyd.Res., 14, 1.

- Synthesis of some N-substituted Methyl 2, 3-dideoxy-2, 3-epimino-β-D-lyxofuranosides.
  J. CLEOPHAX, S.D. GERO, J. HILDESHEIM and A.M. SEPULCHRE, R.D. GUTHRIE and C.W. SMITH, (1970)
  J.Chem.Soc., C, 1385.

- The synthesis of Methyl-β-D-lyxofuranoside derivatives bearing a fused oxazoline ring.
  S.D. GERO, J. HILDESHEIM and E. WALCZAK, R.D. GUTHRIE and C.W. SMITH, (1970).
  J.Chem.Soc.C, 1402.

- Alcaloides stéroidiques C^1 - les holantosines A et B, nouveaux amino-glyco-stéroides isolés des feuilles de l'Holarrhena-antidysenterica (Roxb) wall.
  M.M. JANOT, Q. KHUONG-HUU, C. MONNERET, I. KABORE, J. HILDESHEIM et S.D. GERO, (1970)
  Tetrahedron, 26, 1695.

- Réactions de déplacements en série méthyl ribofuranosique. Synthèse de dérivés du β-D-lyxofuranoside de méthyle.
  J. HILDESHEIM, J. CLEOPHAX et S.D. GERO, (1970)
  Carbohyd.Res., 14, 305.

- Réactions d'élimination et de substitution en série méthyl β-D-lyxo-furanosique.
  J. HILDESHEIM, A. GAUDEMER et S.D. GERO, (1970)
  Carbohyd.Res., 14, 315.

- Préparation et propriétés de dérivés trans-ditosyloxy-tétrahydro-furanniques.
  J. CLEOPHAX, J. HILDESHEIM et S.D. GERO, (1967)
  C.R.Acad.Sc.Paris, 265, 257.

- Réactions de cyclisations conduisant à des dérivés aziridino-tétrahydrofurannes.
  J. CLEOPHAX, J. HILDESHEIM, A.M. SEPULCHRE et S.D. GERO, (1968)
  C.R.Acad.Sc.Paris, 266, 720.

- The synthesis of methyl 5-O-benzoyl-2, 3-dideoxy-β-D-glycero-pentofuranoside (Methyl 5-O-benzoyl-2, 3-dideoxy-β-D-ribofuranoside).
  J. HILDESHEIM, J. CLEOPHAX et S.D. GERO, (1967)
  Tetrahedron Letters, 1685.

- Synthèse de dérivés Δ^{-2}- oxazolino-lyxofuranosides.
  J. HILDESHEIM, E. WALCZAK, S.D. GERO, (1968)
  C.R.Acad.Sc.Paris, 267, 980.

- Synthèse de dérivés du β-D-lyxofuranoside de méthyle à partir du di-O-tosyl-2, 3-O-benzoyl β-D-ribofuranoside de méthyle.
  J. HILDESHEIM, J.CLEOPHAX et S.D. GERO, (1968)
  C.R.Acad.Sc.Paris, 267, 1070.

- Displacement on furanoid systems, stepwise introduction of azide functions into methyl pentofuranosides.
  J. CLEOPHAX, S.D. GERO, J. HILDESHEIM, (1968)
  Chem.Comm., 94.

- Synthesis of 2, 3-epimino pentofuranoside derivatives.
  J.CLEOPHAX, S.D. GERO and J. HILDESHEIM - R.D. GUTHRIE and C.W. SMITH, (1969)
  Chem.Indus.(London), 784.

- An elimination reaction with sodium benzoate-dimethylformamide, leading to Furanoid vinyl-tosylate.(February, 1970)
  Chem.Indus(London), 94

- Components of cardia-glycosides : synthesis of Methyl 4-N-methyl 4-acetamido-2, 4, 6 trideoxy-α-D-glucopyranoside.
  J. HILDESHEIM, S.D. GERO, Q. KHUONG-HUU and C. MONNERET, (1969)
  Tetrahedron Letters, 33, 2489.

- Synthèse et propriétés chimiques de dérivés de l'hydroxy-4-L-Prolinol.
  A.M. SEPULCHRE, J. CLEOPHAX, J. HILDESHEIM et S.D. GERO, (1969)
  C.R. Acad.Sc.Paris, 268, 849.

- Labelling of the active site of β-galactosidase by N-bromoacetyl D-galactopyranosylamine.
  J. YARIV, K.J. WILSON, J. HILDESHEIM and S. BLUMBERG, (1971)
  FEBS Letters, 15, 24.

- Synthèses d'inhibiteurs des méthyl transférases : analogues de la S-adénosyl homocystéine.
  J. HILDESHEIM, R. HILDESHEIM et E. LEDERER, (1971)
  Biochimie, 53, 1067.

- The use of 1-amino-L-fucose bound to sepharose in the isolation L-fucose binding proteins.
  S. BLUMBERG, J. HILDESHEIM, J. YARIV and K.J. WILSON, (1972)
  Biochim.Biophys.Acta, 264, 171.

- Réactions d'assistance de type 1, 3 en série ribofuranosique.
  J. HILDESHEIM, J. CLEOPHAX et S.D. GERO, (1972)
  Bull.Soc.Chim.France, 3450.

- Nouvelles synthèses d'analogues de la S-adénosyl homocystéine.
  J. HILDESHEIM, R. HILDESHEIM et E. LEDERER, (1972)
  Biochimie, 54, 431.

- Etude de l'inhibition d'une t-ARN guanine méthyl transférase de foie de lapin par des analogues structuraux de la S-adénosyl homocystéine.
  J. HILDESHEIM, R. HILDESHEIM, J. YON et E. LEDERER, (1972)
  Biochimie, 54, 989.

- Selective inhibition of t-RNA methyl transferases by S-adenosyl homocysteine and two of its analogues.
  J. HILDESHEIM, J.F. GOGUILLON et E. LEDERER, (1973)
  FEBS Letters, 30, 177.

- Studies on synthetic inhibitors of t-RNA methyl transferases : analogs of S-adenosyl homocysteine.
  J. HILDESHEIM, R. HILDESHEIM, P. BLANCHARD, G. FARRUGIA, et R. MICHELOT, (1973)
  Biochimie, 55, 541, Special issue dedicated to Prof.E. LEDERER for his 65th birthday).

- Synthesis of Bacillosamine.
  A. LIAV, J. HILDESHEIM, U. ZEHAVI and N. SHARON, (1973)
  Chem.Comm. (accepté pour publication).

Pour Publication

- A base pairing hypothesis for t-RNA methylation.
  J. HILDESHEIM, P. BLANCHARD and R. MICHELOT
  (Pour Experientia, 1974).

- Synthèses d'inhibiteurs potentiels de méthyl transférases.
  J. HILDESHEIM, R. HILDESHEIM et P. BLANCHARD
  (Pour C.R.Acad.Sc.Paris, 1974)

Communications Orales

- Déplacement nucléophile d'un ester p-toluènesulfonique "exo" sur pentofuranose.
  J. HILDESHEIM et J. DEFAYE
  Journées de Chimie Organique d'Orsay, Septembre 1966.

- Action de l'iodure de sodium sur des ditosylates viccinaux secondaires en série tétrahydrofurannique.
  J. DEFAYE et J. HILDESHEIM
  Société Chimique de France, Paris, Février 1967.

- Synthèse de dérivés dihydrofuranne (insaturés, azido, épimino).
  J. CLEOPHAX, J. HILDESHEIM et S.D. GERO
  Journées de Chimie Organique, Paris, Février 1967.

- The action of sodium iodide on viccinal secondary ditosylates in the tetrahydrofuran series.
  J. DEFAYE and J. HILDESHEIM
  The Chemical Society, Bristol meeting, April 1967.

- Selective nucleophilic displacement on tetrahydrofuranoid disulfonates.
  J. CLEOPHAX, S.D. GERO, J. HILDESHEIM, R.D. GUTHRIE and C.W. SMITH
  Chemical Society, Bristol meeting, April 1967.

- Déplacements nucléophiliques directs et avec assistance anchimérique des dérivés tétrahydrofuranniques, ribofuranosiques et des dérivés de cyclitols.
  J. CLEOPHAX, J. HILDESHEIM, D. MERCIER et S.D. GERO
  Journées de Chimie Organique d'Orsay, Septembre 1967 (Société Chimique de France)

- Approaches to the synthesis of unsaturated and epimino derivatives of "Modified nucleosides".
  J. CLEOPHAX, S.D. GERO, J. HILDESHEIM, R.D. GUTHRIE and C.W. SMITH
  XXIst International Congress of Pure and Applied Chemistry, Prague, Septembre 1967.

- Stepwise introduction of azide functions into tetrahydrofuranoid and methyl pentofuranoside systems.
  J. CLEOPHAX, S.D. GERO, R.D. GUTHRIE, J. HILDESHEIM and C.W. SMITH
  The Chemical Society, Newcastle meeting, April 1968.

- Synthesis and chemistry of bicyclo (3.1.0) hexanes and bicyclo (2.2.1) heptanes containing two heteroatoms.
  J. CLEOPHAX, S.D. GERO, J. HILDESHEIM,
  8th International symposium on the Chemistry of Natural Products, London, 8-13 July 1968.

- Cyclisations intramoléculaires conduisant aux systèmes bicyclohexane et bicyclo-heptane contenant deux hétéroatomes.
  J. CLEOPHAX, J. HILDESHEIM, A.M. SEPULCHRE et S.D. GERO
  Journées de Chimie Organique d'Orsay, 18-21 Septembre 1968 (Société Chimique de France)

- Synthèse de dérivés épimino et oxazolino β-D-methyllyxofuranosiques à partir du D-ribose.
  J. HILDESHEIM, D. MERCIER et S.D. GERO
  Wintertagung der Gesellshaft fur Biologische Chemie, 7-9 Janvier 1969, Freiburg i.Br. Abstract in Hoppe-Seylers Zeitshrift fur Physiologische Chemie. Band 350, Helft 1 (1969)

- Some nucleophilic displacements in furanoside compounds.
  S.D. GERO, R.D. GUTHRIE, J. HILDESHEIM and C.W. SMITH
  The Chemical Society, Bangor Meeting, Carbohydrate discussion group, April 1969.

- Cyclisation reaction in Carbohydrate chemistry.
  J. CLEOPHAX, S.D. GERO, J. HILDESHEIM and A.M. SEPULCHRE
  ACS meeting, Toronto, Canada, June 1970.

- Synthèse et propriétés chimiques des dérivés azotés du tétrahydrofuranne et de l'hydroxy-4-L-prolinol.
  A.M. SEPULCHRE, J. CLEOPHAX, J. HILDESHEIM et S.D. GERO
  2ème Congrès International de Chimie Hétérocyclique, Montpellier, 7-11 Juillet 1969.

- Les holantosines A et B, nouveaux amino-glyco-steroides.
  J. HILDESHEIM, S.D. GERO, Q. KHUONG-HUU, C. MONNERET et I. KABORE
  Société Chimique de France, Orsay, 23-26 Septembre 1969.

- Preparation and reactivity of 2-amino 6-deoxy D-glucopyranoside derivatives (D-Quinovosamine).
  J. HILDESHEIM, U. ZEHAVI and N. SHARON
  Israel Chemical Society Meeting, Haifa, October 1970.

- Specific eliminations and anchimeric assisted displacements reactions of methyl-pentofuranosides.
  J. HILDESHEIM and S.D. GERO
  Israel Chemical Society Meeting, Haifa, October 1970.

- Synthetic inhibitors of t-RNA methyl transferases.
  J. HILDESHEIM and J.F. GOGUILLON
  9th International Congress of Biochemistry, Stockholm, July 1-7th 1973.

- Synthetic inhibitors of t-RNA methyl transferases : analogs of S-adenosyl homocysteine. A base pairing hypothesis for t-RNA methylation.
  J. HILDESHEIM
  EMBO Workshop, Biological role of S-adenosyl methionine, Methyl transfer and polyamines Biosynthesis, June 27-29th, Gif sur Yvette.